

Aus der Klinik für Tropenmedizin am
Klinikum Würzburg Mitte gGmbH
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Würzburg
Chefarzt: Professor Dr. med. August Stich

**Untersuchungen zur Prävalenz und Antibiotikaresistenz
von *Helicobacter pylori* bei Patientinnen und Patienten
mit epigastrischen Beschwerden
in einem Referenzkrankenhaus in Tansania**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Nele Rüttgerodt
aus Göttingen

Würzburg, Oktober 2021

Referent: Prof. Dr. August Stich
Koreferent/ Koreferentin: Prof. Dr. Oliver Kurzai
Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 01.06.2022

Die Promovendin ist Ärztin.

Mitwirkende an der Studie

Hauptbetreuung: *Dr. med. Andreas Müller*
Abteilung für Tropenmedizin, Klinikum Würzburg Mitte
gGmbH, Würzburg, Deutschland

Nebenbetreuung: *Prof. Dr. med. Stephen Mshana*
Catholic University of Health and Allied Sciences, Mwanza,
Tansania

Frau Dr.ⁱⁿ rer. nat. MSc. Christa Kasang
Missionsärztliches Institut, Würzburg, Deutschland

Laborbetreuung: *Dr. rer. nat. Wolfgang Bohne*
Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Göttin-
gen, Deutschland

Prof. Dr. med. Uwe Groß
Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Göttin-
gen, Deutschland

Weitere Mitwirkende: *Frau Dr.ⁱⁿ med. Hyasinta Jaka*
Bugando Medical Center, Mwanza, Tansania

Dr. med. Kessy Obed Mheta
Catholic University of Health and Allied Sciences, Mwanza,
Tansania

Die Studie wurde in Kooperation mit der Catholic University of Health and Allied Sciences in Mwanza, Tansania, dem Bugando Medical Center in Mwanza, Tansania, dem Missionsärztlichen Institut in Würzburg, Deutschland und dem Institut für Medizinische Mikrobiologie in Göttingen, Deutschland, durchgeführt.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	<i>Helicobacter pylori</i> als wachsende medizinische Herausforderung.....	1
1.2	Epidemiologie und Transmission von <i>Helicobacter pylori</i> -Infektionen.....	1
1.3	Bakteriologie und Virulenzfaktoren	3
1.4	Pathophysiologie und klinisches Erscheinungsbild von <i>Helicobacter pylori</i> -Infektionen.....	4
1.5	Diagnostische Nachweismethoden von <i>Helicobacter pylori</i>	6
1.5.1	Invasive Methoden.....	9
1.5.2	Nicht-invasive Methoden.....	12
1.5.3	Standarddiagnostik in Tansania	13
1.6	Therapie zur <i>Helicobacter pylori</i> -Eradikation	13
1.6.1	Indikationen und Therapieerfolg.....	14
1.6.2	Clarithromycin als Therapiebestandteil.....	15
1.6.3	Levofloxacin und Moxifloxacin als Therapiebestandteile	15
1.7	Antibiotikaresistenzen.....	15
1.7.1	Resistenzmechanismen von Makroliden und Fluorchinolonen	16
1.7.2	Resistenzraten von Makroliden und Fluorchinolonen	17
1.8	Motivation und Zielsetzung.....	18
2	Material, Studienkollektiv und Methoden	21
2.1	Material	21
2.2	Studienkollektiv und Methoden.....	25
2.2.1	Darstellung des Studiendesigns.....	25
2.2.2	Durchführung der Studie	27
2.3	Datenverarbeitung und Auswertung	35
2.3.1	Statistische Analyse	35
2.3.2	Molekulargenetische Auswertung.....	38
3	Ergebnisse	39
3.1	Beschreibung der Stichprobe	39
3.2	Fragebogenauswertung.....	40
3.2.1	Deskriptive Beschreibung des Studienkollektivs.....	40
3.2.2	Assoziation zwischen den untersuchten Merkmalen und dem Vorliegen einer <i>Helicobacter pylori</i> -Infektion	46
3.3	<i>Helicobacter pylori</i> -Prävalenz.....	48

3.3.1	Prävalenzbestimmung von <i>Helicobacter pylori</i> -Infektionen mittels qRT-PCR	48
3.4	Ergebnisvergleich diagnostischer Schnelltestmethoden	48
3.4.1	Statistische Gütekriterien von <i>H.p.</i> Koproantigen -, <i>H.p.</i> Antikörper-Schnelltest aus Vollblut- und Urease-Schnelltest	49
3.4.2	Übereinstimmungsmaß diagnostischer Schnelltests mit qRT-PCR als Referenzmethode	49
3.5	Identifizierung von <i>Helicobacter pylori</i> -Resistenzgenen	50
3.5.1	Clarithromycinresistenz	50
3.5.2	Fluorchinolonresistenz	53
3.5.3	Resistenzlage des untersuchten Studienkollektivs	55
4	Diskussion	57
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	57
4.2	Diskussion von Studiendesign und Methoden	58
4.3	Interpretation der wichtigsten Ergebnisse und Einordnung in den Stand der aktuellen Forschung	61
4.3.1	Prävalenz von <i>Helicobacter pylori</i> in Tansania	61
4.3.2	Begünstigende Infektionsfaktoren	63
4.3.3	Diagnostische Aussagekraft der angewandten Testverfahren	65
4.3.4	Resistenzraten von Clarithromycin und Fluorchinolone	67
4.4	Schlussfolgerung und Ausblick	69
5	Zusammenfassung	73
6	Literaturverzeichnis	75
Appendix		83
I	Abkürzungsverzeichnis	83
II	Abbildungsverzeichnis	85
III	Tabellenverzeichnis	86
IV	Studienrelevante Dokumente	88
V	Danksagung	101

1 Einleitung

1.1 *Helicobacter pylori* als wachsende medizinische Herausforderung

Infektionen mit dem Magenbakterium *Helicobacter pylori* (*H.p.*) sind weltweit für einen Großteil der Magenschleimhautentzündungen verantwortlich (1, 2). Eine persistierende Infektion kann im weiteren Verlauf zu schwerwiegenden Erkrankungen wie bspw. Magenkarzinomen, peptischen Ulcera oder dem MALT-Lymphom führen (2). Nach Bekanntwerden des eindeutigen Zusammenhangs zwischen *H.p.*-Infektionen und Magenkarzinomen wurde *H.p.* 1994 von der WHO als Karzinogen der Gruppe 1 eingestuft (3). Mit einer adäquaten Therapie kann eine *H.p.*-Infektionen in über 80% der Fälle erfolgreich eradiziert und das Auftreten von Folgeerkrankungen weitgehend verhindert werden (2). Aufgrund steigender Resistenzentwicklungen ist jedoch die Zahl der Therapieversagenden in den letzten Jahren weltweit weiter angestiegen. Resistenzmutationen gegenüber dem Erstlinienmedikament Clarithromycin (CL) werden hierbei eine entscheidende Bedeutung beigemessen (2). Ein Anstieg der Resistenzen ist nicht nur bei Erstlinienantibiotika zu verzeichnen; die Resistenzraten sind mittlerweile selbst bei Reservemedikamenten wie Fluorchinolonantibiotika (FQ) mit über 20% alarmierend hoch (4-6). Auf die Mechanismen und Resistenzraten wird in *Abschnitt 1.7* näher eingegangen. Zwar ist in den Industrienationen mittlerweile insgesamt ein Rückgang der Infektionsraten zu verzeichnen, für Länder mit begrenzten Ressourcen hingegen werden noch immer hohe Durchseuchungsraten beschrieben (2). Die wachsende Resistenzproblematik in Zusammenhang mit den noch immer hohen Prävalenzraten in Entwicklungsländern stellt eine große medizinische Herausforderung dar und verdeutlicht die Dringlichkeit und den Handlungsbedarf im Bereich der Prävention, Diagnostik und Therapie von *H.p.*.

1.2 Epidemiologie und Transmission von *Helicobacter pylori* - Infektionen

Epidemiologie

Es wird davon ausgegangen, dass mehr als 50% der Erdbevölkerung mit dem Bakterium *H.p.* infiziert sind (1, 7-9). Die Prävalenz der Infektion divergiert weltweit und scheint von unterschiedlichen Faktoren abhängig: Zum einen spielen von außen determinierte Umstände wie die geographische Lage, der Entwicklungsstand des Heimatlandes und die ethnische Zugehörigkeit eine entscheidende Rolle, zum anderen ist die Prävalenz von

individuellen Faktoren wie dem sozioökonomischen Status, den persönlichen Lebensumständen und dem Hygienestandard abhängig (7, 8, 10-12). Die Differenzen der Durchseuchungsraten lassen sich durch Unterschiede in der Exposition gegenüber bekannten Risikofaktoren erklären (2). Eine Infektion mit *H.p.* findet in Ländern mit begrenzten Ressourcen verglichen mit Industrienationen früher statt und ist in der Bevölkerung weitaus stärker verbreitet (1, 8, 9). Der afrikanische Kontinent weist mit durchschnittlich 79,1% weltweit die höchsten *H.p.*-Prävalenzen auf (8). Diese Angaben decken sich mit den für Tansania ermittelten Prävalenzen von 60-90%. Ähnliche Ergebnisse liegen auch für die angrenzenden ostafrikanischen Länder Ruanda, Äthiopien und Kenia vor (13-16). Zudem lässt sich ein Anstieg der Durchseuchungsrate um ca. 1% pro Lebensalter verzeichnen. Entgegen früherer Annahmen wird heute davon ausgegangen, dass diese Aussage auf einen Kohorteneffekt¹ innerhalb der Geburtsjahrgänge beruht und nicht auf eine mit dem Alter ansteigende Infektionsrate (17).

Transmission

Erstinfektionen mit *H.p.* erfolgen größtenteils im Kindesalter (2, 17). Das Risiko sich zu infizieren wird folglich primär von Lebensumständen, denen man während der Kindheit ausgesetzt ist, beeinflusst (2). Zu den wichtigsten Risikofaktoren zählen ein niedriger sozioökonomischer Status, ein geringer Hygienestandard sowie das Aufwachsen in einer Großfamilie mit engem Kontakt zu infizierten Familienmitgliedern oder anderen nahestehenden Personen (12, 18-20). Die Annahme einer oral-oralen oder fäkal-oralen Infektionsübertragung ist daher weit verbreitet (2). Vermutet wird, dass eine Infektion nicht nur von Mensch zu Mensch, sondern bspw. auch durch verschmutzte Gewässer erfolgen kann (17). Ebenso sind Assoziationen zum Rauchen oder zu einem hohen Fleischkonsum beschrieben (19). Eine Reinfektion mit *H.p.* nach erfolgreicher Therapie ist möglich und entspricht mit ca. 1-2% pro Jahr der Rate an Neuinfektionen bei Erwachsenen (17). Meistens kommt es im Falle einer Reinfektion im ersten Jahr nach Eradikation zu einem Rezidiv mit dem gleichen Bakterienstamm (2).

¹ Kohorte beschreibt eine Bevölkerungsgruppe, die durch ein gemeinsames zeitliches Ereignis geprägt ist. Kohorteneffekt beschreibt die Folge systematischer Unterschiede zwischen einzelnen Kohorten.

1.3 Bakteriologie und Virulenzfaktoren

Bakteriologie

H.p. ist ein obligat pathogenes, gramnegatives Bakterium, das unter mikroaerophilen² Bedingungen wächst und in der Magenschleimhaut bevorzugt die Antrumregion kolonisiert. Es ist ein anspruchsvolles Bakterium, das sehr empfindlich auf Umwelteinflüsse wie bspw. Nährstoff- oder Sauerstoffmangel reagiert (21). *H.p.* ist etwa 0,6-3,5 µm groß, spiralförmig gebogen und lophotrich begeißelt. Die Geißeln ermöglichen dem Bakterium eine zielgerichtete Durchdringung des viskösen Magenschleims und eine Ansiedlung in den Foveolarepithelien (22). Im Jahre 1982 wurde das Bakterium von den Medizinern Barry Marshall und John Robin Warren erstmals erfolgreich isoliert. Anhand eines Eigenversuchs konnte Marshall seine Vermutung, dass *H.p.* als Erreger eine Gastritis verursacht, bestätigen (23). Das Genom von *H.p.* wurde 1997 vollständig sequenziert (22). Das ringförmige Chromosom enthält ca. 1500 Gene und stellt mit ca. 1,65 Mio. bp ein relativ kleines Genom dar (1). *H.p.* weist eine große genetische Variabilität auf, welche durch eine hohe Anzahl an Mutationen und genetischen Rekombinationen bedingt ist (24). Das Bakterium kann sich durch die oben genannten Methoden individuell an den Wirtsorganismus adaptieren. Folglich existiert eine Vielzahl an unterschiedlichen Bakterienstämmen weltweit.

Virulenzfaktoren

Virulenzfaktoren beschreiben Eigenschaften von Mikroorganismen, die es ihnen ermöglichen, die natürliche Abwehr des Wirts zu umgehen, um sich einzunisten und vermehren zu können. Sie können den Wirtsorganismus schädigen, Entzündungsreaktionen auslösen sowie im Verlauf Krankheiten verursachen. Virulenzfaktoren sind innerhalb des Genoms der Bakterien gehäuft in einem bestimmten DNA-Abschnitt, der sogenannten Pathogenitätsinsel³, angeordnet. Es sind verschiedene Virulenzfaktoren bekannt, die dem Bakterium *H.p.* eine jahrelange Persistenz in der Mukosa ermöglichen: Neben Adhäsinen und Flagellen, die für die Durchdringung des viskösen Magenschleims und die Anheftung an das Schleimhautepithel verantwortlich sind, ist der Mechanismus der Urease von entscheidender Bedeutung. Die Urease ist ein Enzym, welches Harnstoff in Ammo-

² Mikroaerophile Bedingungen beschreiben den Zustand, wenn die Sauerstoffkonzentration geringer als die der Luft ist, also unter 21 % liegt.

³ Pathogenitätsinseln beschreiben DNA-Sequenzen innerhalb eines Bakteriengenoms, die für Virulenzfaktoren codieren.

niak und Kohlenstoffdioxid spaltet. Diese Reaktion wird in der Diagnostik – als sogenannter Ureasetest – zum Nachweis von *H.p.* genutzt. Ammoniak alkalisiert den sauren Magensaft in der unmittelbaren Umgebung von *H.p.* und schafft so durch lokale Hypochlorhydrie⁴ ein für das Bakterium überlebensfähiges Milieu (1). Neben dem zytotoxisch wirkenden Ammoniak produziert *H.p.* weitere Substanzen, die eine schädigende Wirkung auf die Epithelzellen der Magenmukosa haben. Zu ihnen zählen u. a. Enzyme wie Proteasen, Lipasen, Katalasen und Superoxiddismutasen, welche reaktive Sauerstoffradikale entgiften. Auch die Zytotoxine VacA und CagA (cytotoxin-associated gene A) gehören zu den Virulenzfaktoren und dienen der Abwehr von *H.p.* gegenüber dem Wirtorganismus (1, 25, 26). Den cag-Pathogenitätsinseln wird hinsichtlich der Krankheitsentstehung durch *H.p.*-Infektionen eine besondere Bedeutung zugeschrieben (27). Die bakterielle Besiedlung des Magenepithels mit *H.p.* führt aufgrund der vorhandenen Virulenzfaktoren zu einer Ausschüttung von Entzündungsmediatoren (TNF-alpha, IL-1/8), die u. a. den Einstrom von Granulozyten bewirken und eine Entzündungsreaktion mit Gewebeschädigung hervorrufen (1).

1.4 Pathophysiologie und klinisches Erscheinungsbild von *Helicobacter pylori*-Infektionen

Pathophysiologie

Eine Infektion mit *H.p.* führt durch eine proinflammatorische Immunreaktion mit einhergehender Zellschädigung zu einer akuten Entzündungsreaktion der Magenschleimhaut. Bei Persistenz des Bakteriums geht die aktive Entzündung in der Regel in einen chronischen Zustand – die chronische Gastritis – über. Das histologische Bild der chronisch-aktiven Gastritis ist geprägt durch ein Infiltrat aus Entzündungszellen, bestehend aus Lymphozyten, Granulozyten und Plasmazellen. Meist ist die Antrumregion des Magens am stärksten von der *H.p.*-Besiedlung und der dadurch ausgelösten Entzündung betroffen (22). Als Folge von *H.p.*-Infektionen kann es außerdem zur Atrophie der Schleimhaut, zur Bildung von Lymphfollikeln sowie zur Entstehung von Schleimhautmetaplasien kommen.

⁴ Verminderte Säureproduktion.

Klinisches Erscheinungsbild

Die Mehrheit der chronischen Gastritiden bleibt über Jahre asymptomatisch. In Einzelfällen kommt es zu unspezifischen dyspeptischen Beschwerden. Vereinfacht wird die chronische Magenschleimhautentzündung in drei Typen untergliedert: Die Typ-B (bakterielle) Gastritis ist zu über 90% auf eine Kolonisation mit *H.p.* zurückzuführen. Auch die Typ-A (autoimmun) Gastritis kann durch eine *H.p.* Infektion getriggert werden (28). Typ-C (chemische) Gastritiden hingegen werden weitestgehend durch Noxen (Medikamente, Alkohol, Gallereflux o. ä.) bedingt. Die Riesenfaltengastritis (M. Ménétrier), eine selten vorkommende Verlaufsform, ist ebenfalls mit *H.p.*-Infektionen vergesellschaftet. Als Reaktion auf die chronische Entzündung entwickeln im Verlauf ca. 10-20% der infizierten Patientinnen und Patienten Krankheitsbilder wie gastroduodenale Ulzera, MALT-Lymphome oder Adenokarzinome (29). Ulzera, die im Duodenum lokalisiert sind, sind zu 100% mit *H.p.* assoziiert, gastrale Ulzera können hingegen auch durch Medikamente wie NSAR ausgelöst sein (1). Das Risiko, an einem Magenkarzinom zu erkranken, kann durch eine *H.p.*-Infektion um das 2-6fache ansteigen. Der Zusammenhang zwischen *H.p.*-Infektionen und der Entstehung von Magenkarzinomen wurde auch von der IARC (International Agency for Research on Cancer) der WHO erkannt, sodass *H.p.* 1994 von ihnen als gesichertes Karzinogen eingestuft wurde (1, 29). Aufgrund verbesserter Präventivmaßnahmen und Therapieoptionen konnte in den letzten Jahren ein deutlicher Rückgang von Inzidenz und Mortalität des Magenkarzinoms verzeichnet werden. Weltweit gesehen stellt es trotz vorhandener Präventionsmaßnahmen und Therapieverfahren noch immer die dritthäufigste Krebstodesursache dar (1, 30). Obwohl afrikanische Länder hohe Durchseuchungsraten mit *H.p.* verzeichnen, ist das Auftreten von Magenkarzinomen vielerorts vergleichsweise gering. Dieses Phänomen wird durch den Ausdruck „African enigma“ beschrieben (31, 32). Erstaunlicherweise gilt dies nicht für Tansania. Insbesondere in der Region um den Mt. Kilimanjaro fanden sich hohe Prävalenzen für Magenkrebs (33).

Diese Erkenntnisse unterstreichen die multifaktorielle Genese der durch *H.p.* verursachten Erkrankungen und verdeutlichen, dass nicht nur die Infektion an sich eine Rolle in der Krankheitsentstehung spielt. Die klinische Ausprägung der einzelnen Manifestationen variiert stark und ist u. a. von spezifischen Eigenschaften des Bakterienstamms, von der genetischen Prädisposition des Wirts und von äußeren Umweltfaktoren abhängig (1).

1.5 Diagnostische Nachweismethoden von *Helicobacter pylori*

Diagnostische Indikationen

Angesichts der hohen Prävalenz und der krankheitsverursachenden Bedeutung von *H.p.*-Infektionen ist die Verfügbarkeit einer sicheren Diagnostik von großer Relevanz. Insbesondere für ressourcenschwache Länder sind kostengünstige, verlässliche Testverfahren, die keiner zusätzlichen apparativen Ausstattungen bedürfen, von entscheidender Bedeutung. Eine primäre Infektionsdiagnostik ist grundsätzlich immer dann durchzuführen, wenn ein Infektionsnachweis therapeutische Konsequenzen zur Folge hat. Zusätzlich wird laut der deutschen Leitlinie eine Kontrolluntersuchung vier Wochen nach abgeschlossener Tabletteneinnahme empfohlen. Sie erfüllt den Zweck, Therapieerfolge zu verifizieren und Therapieversagende ausfindig zu machen (2).

Nachweismethoden – Aussagekraft und ihre Grenzen

Zur Detektion von *H.p.* steht eine Vielzahl diagnostischer Tests mit unterschiedlichen Ansatzpunkten zur Verfügung, bei denen sich u. a. die bakterienspezifischen Eigenschaften zunutze gemacht werden (2). Zu beachten sind die unterschiedlichen Vor- und Nachteile eines jeden Verfahrens sowie die jeweiligen Limitationen hinsichtlich Anwendung und diagnostischer Aussagekraft (7). Die Nachweismethoden zur Detektion von *H.p.* können in direkte vs. indirekte, aber auch in invasive vs. nicht-invasive Testverfahren untergliedert werden.

Eine Übersicht und Zuordnung der für diese Arbeit relevanten diagnostischen Verfahren findet sich in *Tabelle 1*. Alle diese Methoden sind hinreichend validiert, um in der *H.p.*-Diagnostik zum Einsatz zu kommen. Relevante Unterschiede hinsichtlich des Testmediums und der Testgenauigkeiten sind in *Tabelle 2* aufgeführt. Für eine verlässliche Diagnose sind laut Leitlinie der DGVS i. d. R. zwei übereinstimmende positive Testergebnisse unterschiedlicher Verfahren notwendig⁵ (2, 27).

⁵ Aufgrund hoher Vortestwahrscheinlichkeiten ist bei Vorliegen von duodenalen Ulcera und chronisch-aktiven Gastritiden ein positives Testergebnis zur Diagnosestellung ausreißend. Geht es um die Diagnose von *H. pylori* und Kur, dann werden diese Testverfahren einzeln betrachtet. Eine Spezifität von nahezu 100 % aufweisen.

Tab. 1: Übersicht relevanter Testmethoden für diese Studie

	Direkte Testmethoden	Indirekte Testmethode
Invasive Testmethoden	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kultur ▪ Histologie ▪ PCR 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ RUT
Nicht-invasive Testmethoden	/	<ul style="list-style-type: none"> ▪ C13-Atemtest ▪ <i>H.p.</i> Antikörper-Schnelltest aus Vollblut ▪ <i>H.p.</i> Koproantigen-Schnelltest

Tab. 2: Sensitivität und Spezifität unterschiedlicher Testverfahren (modifiziert nach S2k-Leitlinie 2016 der DGVS)

Testverfahren	Testmedium	Spezifität	Sensitivität
PCR	Gewebeprobe	90-95%	90-95%
RUT	Gewebeprobe	90-95%	90-95%
Kultur	Gewebeprobe	Bis zu 100%	70-90%
Histologie	Gewebeprobe	90-98%	80-98%
C13-Atemtest	Atemluft	85-95%	85-95%
<i>H.p.</i> Koproantigen-Schnelltest	Stuhl	85-95%	85-95%
<i>H.p.</i> Antikörper-Schnelltest aus Vollblut	Blutserum	70-90%	70-90%

Zu beachten ist, dass bis dato kein allgemeingültiger Goldstandard zur Diagnosestellung von *H.p.*-Infektionen existiert (2, 21). Vielerorts werden der C13-Atemtest in der nicht-invasiven und die Histologie in der invasiven Diagnostik als Goldstandard betrachtet (7). Allerdings wurde in den letzten Jahren vermehrt auch die PCR als Referenzverfahren erwogen, da sie den Vorstellungen und Kriterien eines Goldstandards am nächsten kommt (21). Welche Methoden letztendlich zum Einsatz kommen, ist von einer Vielzahl an Faktoren abhängig. Dazu zählen bspw. die klinische Indikation, vorbehandelte *H.p.*-Infektionen, Alter, Allgemeinzustand und Begleiterkrankungen der betroffenen Person, Risiken und Kosten der einzelnen Verfahren sowie Ressourcen und Ausstattung der jeweiligen Institution (7). Bei der Beurteilung der einzelnen Testverfahren sind die Vortestwahrscheinlichkeit, die klinische Manifestation, die Prävalenz der jeweiligen Region sowie mögliche Störfaktoren zu berücksichtigen. Störfaktoren können im Zuge der Diagnostik

zu falsch negativen oder zu falsch positiven Ergebnissen führen. Urease-abhängige Testverfahren sind hierbei besonders anfällig: So kann z. B. eine PPI oder Antibiotikatherapie während bzw. innerhalb der letzten zwei bzw. vier Wochen vor Testdurchführung falsch negative Resultate verursachen, da sie durch Reduktion der Kolonisationsdichte ein Herabsetzen der Ureaseaktivität bedingen (2). Ebenso können eine akute obere GI-Blutung, eine stattgefunden Magenteilresektion, Metaplasien-, Karzinome- und Lymphome des Magens falsch negative Ergebnisse bewirken. Falsch positive Testergebnisse müssen insbesondere bei indirekten Urease-abhängigen Verfahren im Falle einer bakteriellen Überbesiedlung von Urease bildenden Bakterien bedacht werden (2, 21, 34). Eine Aufzählung von Vor- und Nachteilen einzelner Methoden sowie eine Zuordnung möglicher Störfaktoren zu den einzelnen Testverfahren finden sich in *Tabelle 3* und *Tabelle 4*.

Tab. 3: Relevante Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Testverfahren

Testmethode	Vorteil	Nachteil
C13-Atemtest	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nicht invasiv 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hohe Kosten ▪ Aufwendige Ausstattung/ Durchführung
<i>H.p.</i> Antikörper-Schnelltest aus Vollblut	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nicht invasiv ▪ Kosteneffizient ▪ Einfache Handhabung ▪ Schnelles Ergebnis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Keine Unterscheidung zwischen vergangener und bestehender Infektion
<i>H.p.</i> Koproantigen-Schnelltest	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nicht invasiv ▪ Kosteneffizient ▪ Ambulante Handhabung ▪ Schnelles Testergebnis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ AG-Menge abhängig von Stuhlkonsistenz/ Beschaffenheit
RUT	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kosteneffizient ▪ Einfache Handhabung ▪ Schnelles Testergebnis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Invasiv ▪ Überwachung des Testmediums auf pH-Umschlag
Kultur	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Resistogramm 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Invasiv ▪ Schwer anzüchtbar
Histologie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mitbeurteilung der Magenmukosa ▪ Quantitative Aussage möglich 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Invasiv
PCR	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hohe Testgenauigkeit ▪ Quantitative Aussage möglich 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Invasiv ▪ Hohe Kosten ▪ <i>In vitro</i> Infektion \neq <i>in vivo</i>

Tab. 4: Gegenüberstellung ausgewählter Störfaktoren

Testmethode	Ursachen falsch positiver Ergebnisse	Ursachen falsch negativer Ergebnisse
Serum-Antikörpertest	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kreuzreagierende AK ▪ Persistierende AK nach erfolgter Eradikation 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fehlende Immunantwort ▪ AK-Titer unter Nachweisgrenze ▪ AG-Diversität
Stuhl-Antigentest		<ul style="list-style-type: none"> ▪ PPI-, Bismut-Antibiotikatherapie
RUT	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Überwucherung mit Urease produzierenden Bakterien anderer Spezies 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ PPI-, Bismut-, Antibiotikatherapie
Histologie ⁶		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Geringe Kolonisationsrate ▪ PPI-, Bismut-, Antibiotikatherapie
PCR	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Kontamination mit Bakterien anderer <i>Helicobacter</i>-Spezies 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bakterieneigene PCR Inhibitoren (24)

1.5.1 Invasive Methoden

Zu den invasiven Nachweisverfahren werden der Urease-Schnelltest (RUT), die Histologie, die Kultur als mikrobiologische Methode sowie die molekulargenetische Diagnostik mittels PCR gezählt. Allen Methoden der invasiven Diagnostik ist gemein, dass sie an endoskopische Eingriffe mit Probeentnahme aus der Magenschleimhaut gebunden sind. Für die Untersuchung der Biopsie gilt, dass möglichst zwei verschiedene Testverfahren für eine sichere Diagnostik kombiniert werden sollten. Die Anzahl der benötigten Biopsien unterscheidet sich innerhalb der Testverfahren: Für die Histologie werden aufgrund der diskontinuierlichen Kolonisierung entsprechend der Sydney Klassifikation je zwei Gewebeproben aus Magenantrum und Korpus, von großer und kleiner Krümmung, benötigt. Für den RUT, die Kultur und die PCR sind je eine Biopsie aus Antrum bzw. Korpus von der großen Krümmung für eine sichere Diagnosestellung ausreichend, da hier die Bakteriendichte am höchsten ist. Empfohlen wird eine Probeentnahme aus morphologisch unauffälligen Schleimhautarealen (2).

⁶ Histologie der Vorständekthaber erwähnt. Eine histologische Untersuchung war ursprünglich geplant, aufgrund von Transport- und Lagerungsschäden waren die Biopsien allerdings nicht auswertbar.

Nachweis mittels kultureller Anzucht von *Helicobacter pylori*

Der kulturelle Nachweis zählt wie auch die Histologie und die PCR zu den direkten Nachweisverfahren und erreicht als einziges Verfahren eine Spezifität von bis zu 100%. Für die Kultur werden vitale Bakterien benötigt, welches mit einem erhöhten logistischen Aufwand einhergeht. Nachteilig ist neben einem vergleichsweise hohen Aufwand und einer relativ langen Zeitspanne von bis zu zwei Wochen bis zur Diagnosestellung auch die eingeschränkte Sensitivität von 70-90%. Diese erklärt sich durch die erschwerte Anzuchtbarkeit von *H.p.* (21). Die Kultur wird daher nur eingeschränkt zu diagnostischen Zwecken angelegt. Vielmehr hat die Bakterienkultur ihren Stellenwert bei der Erstellung eines Resistogramms als Grundlage für eine gezielte Eradikationstherapie (2). Aus den genannten Gründen wurde in dieser Arbeit auf den Einsatz der Kultur verzichtet.

Histologie

Die Histologie basiert wie auch die Kultur auf dem direkten Nachweis des gesamten Bakteriums. Die histologische Untersuchung mittels Mikroskop war das erste diagnostische Verfahren zum Nachweis von *H.p.* (21). Aufgrund einer hohen Sensitivität und Spezifität gilt sie auch heute noch als zuverlässige Testmethode. Ein Vorteil der Histologie ist, dass sich im Rahmen der mikroskopischen Präparatauswertung nicht nur Rückschlüsse auf eine vorhandene Infektion und die bakterielle Flora selbst, sondern auch auf das umliegende Gewebe ziehen lassen. Eine zusätzliche Beurteilung der Läsionen, ihrer Ausdehnung und möglicher Folgen sind mittels Histologie möglich (21).

Zu beachten ist, dass eine Diagnosestellung labor- und untersucherabhängig ist und i. d. R. 2-3 Tage beansprucht. Die S2k-Leitlinie empfiehlt daher bei invasivem Vorgehen die Histologie mit einem RUT zu kombinieren, um noch während der Untersuchung zu einer Diagnose zu gelangen (2).

Urease-Schnelltest (Synonym RUT, CLO-Test, HUT-Test)

Der RUT ist nach dem gleichnamigen Enzym benannt, welches zu den Virulenzfaktoren von *H.p.* zählt und Harnstoff in Ammoniumionen und Kohlenstoffdioxid spaltet. Für die Testdurchführung werden Magenbiopsien benötigt, die in die Testlösung platziert werden. Das Testverfahren basiert auf dem Nachweis von Ammoniak mittels Farbstoffindikatorlösung: Ist die Magenschleimhaut mit *H.p.* kolonisiert, werden mittels Urease vermehrt Ammoniumionen gebildet, welche einen pH-Anstieg bewirken. Die harnstoffhal-

tige Testlösung reagiert auf die pH-Veränderung mit einem Farbumschlag von gelb nach rosa/rot. Um einen Farbumschlag zu bewirken, ist eine Infektionsdosis von ca. 10^5 erforderlich, welche bei einer *H.p.*-Infektion, anders als bei anderen Urease produzierenden Bakterien (bspw. Proteus, Klebsiellen, Enterobacter, Citrobacter) problemlos erreicht wird. Je höher die Infektionsdosis, desto schneller kommt es zum Farbumschlag. Ist die Farbe des Testmediums nach 24 Stunden unverändert gelb, ist von einem negativen Ergebnis auszugehen, da ein Farbumschlag nach Ablauf der 24 Stunden zumeist durch eine andere Bakterienart verursacht wird (27). Wesentliche Vorteile des RUTs sind die einfache Handhabung, seine kostengünstige Umsetzung sowie die sofortige Ergebnisermittlung, die bei Bedarf eine umgehende Therapieeinleitung ermöglicht. Durch die Einnahme von bestimmten Medikamenten (bspw. PPIs, Antibiotika oder Bismut) kann es zu falsch-negativen Ergebnissen kommen, da die Stoffwechselproduktion und somit die Ureaseaktivität gehemmt wird. Ebenso kann ein negatives Ergebnis durch das Vorliegen einer atrophischen Gastritis oder einer intestinalen Metaplasie vorgetäuscht werden, da im Bereich dieser Läsionen nur vereinzelt Bakterien zu finden sind (27).

Molekularbiologischer Nachweis von *Helicobacter pylori* mittels PCR

Die Verwendung von molekularbiologischen Nachweismethoden wie der PCR ist im Laufe der letzten Jahre stetig gestiegen. Die PCR wird als Verfahren zur Identifizierung infizierter Proben, aber auch in der Diagnostik von Resistenz-assoziierten Mutationen eingesetzt. Das Grundprinzip gründet sich auf der Amplifizierung spezifischer DNA-Fragmente, die entweder für sich genommen diagnostisch relevant sind oder für weiterführende Verfahren benötigt werden. Grundsätzlich steht eine Vielzahl unterschiedlicher PCR-Techniken für verschiedene Anwendungsgebiete zur Verfügung. Eine weit verbreitete und auch in dieser Arbeit angewandte Methode ist die quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR). Die qRT-PCR misst mittels Fluoreszenz quantitativ die vorhandenen und zuvor amplifizierten genomischen DNA-Stränge. Dies ermöglicht neben einer qualitativen auch eine semiquantitative Aussage über die Schwere der Infektion. Die PCR gilt als zuverlässiges Testverfahren, das zusammen mit dem RUT unter allen Nachweismethoden die höchste Sensitivität aufweist (vgl. Tabelle 2). Dennoch kann es durch abgestorbene Bakterien oder durch Kontamination im Rahmen der Aufbereitung in der Magenmukosa zu falsch positiven Ergebnissen kommen (35). Auch falsch negative Ergebnisse müssen bedacht werden; z. B. verursacht durch bakterieneigene Polymeraseinhibitoren, welche eine Inaktivierung des Enzyms Polymerase verursachen und somit eine Vervielfältigung der DNA verhindern (21). Aufgrund von Invasivität, hohen Kosten und

einem vergleichsweise großen logistischen Aufwand wird die PCR im Klinikalltag weniger zur Routinediagnostik eingesetzt. Vielmehr kommt sie im Rahmen von Studien und zur Resistenz-assoziierten Mutationsanalyse zum Einsatz, so auch in dieser Arbeit. Bei der Ergebnisauswertung ist zu bedenken, dass ein positives Testergebnis in der PCR nicht automatisch Rückschlüsse auf eine floride Infektion zulässt.

1.5.2 Nicht-invasive Methoden

Zu den drei relevanten Testmethoden der nicht invasiven Diagnostik zählen der Nachweis von Antikörpern (AK) aus Blutserum, der Nachweis von Antigenen (AG) mittels monoklonaler AK aus Stuhlproben und die Messung von Kohlenstoffdioxid in der Atemluft beim C13-Atemtest. Aufgrund der fehlenden Invasivität sind die Verfahren mit wenig Nebenwirkungen verbunden und für die Patientinnen und Patienten i. d. R. gut verträglich (21). Ihre Anwendung findet die nicht-invasive Diagnostik vor allem bei Kindern und Jugendlichen, bei vorhandener Kontraindikation für eine Gastroskopie, im Rahmen von Verlaufskontrollen nach Eradikationstherapie oder in epidemiologischen Studien (2).

C13-Atemtest (Synonym: C13 Harnstofftest, Urease breath test, URT)

Innerhalb der nicht invasiven Nachweisverfahren wird dem C13-Atemtest in der Diagnostik von aktiven Infektionen die größte Bedeutung zugeschrieben. Der C13-Atemtest basiert auf dem Nachweis von mit nicht-radioaktivem C13-Isotop markiertem CO₂ in der Ausatemluft. Dieser dient als Indikator für die bakterielle Ureaseaktivität. Der C13-Atemtest ist kostenintensiv und mit einem vergleichsweise hohen apparativen Aufwand verbunden. In dieser Arbeit wurde daher auf seinen Einsatz verzichtet.

***H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut**

Eine Infektion mit *H.p.* induziert im Körper eine systemische Immunantwort mit spezifischer Antikörperbildung. Der *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut erfasst dabei i. d. R. AK vom IgG -, seltener vom IgA-Typ. Zu beachten ist, dass die Serologie laut S2k Leitlinie weder zum Nachweis einer Akutinfektion noch zur Beurteilung des Therapieerfolgs geeignet ist – insbesondere, da eine Unterscheidung zwischen vergangener und akut fortbestehender Infektion im Zweifel nicht möglich ist. Dafür ursächlich sind AK, die aufgrund eines verzögerten Abfalls noch Monate bis Jahre nach erfolgreicher Eradikation im Blut persistieren können (2). Zu diagnostischen Zwecken wird die Serologie dennoch bei akuter GI-Blutung oder unter laufender PPI-Therapie eingesetzt, da die AK-

Bildung im Gegensatz zu alternativen Testmethoden und somit die Aussagekraft des Tests von der Medikation unbeeinflusst bleiben.

***H.p.* Koproantigen-Schnelltest**

Für den Nachweis von Antigenen im Stuhl stehen verschiedene Testverfahren zur Verfügung: Neben immunologischen Testverfahren wie dem etablierten monoklonalen Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) werden in der Diagnostik auch immunchromatographische⁷ *H.p.* Koproantigen-Schnelltests mit rein qualitativer Aussage verwendet (36). Ein Beispiel hierfür ist der SD BIOLINE H. Pylori-Ag Test, der als Bedsidetest Anwendung findet und auch in dieser Arbeit eingesetzt wurde (37). Vorteile der *H.p.* Koproantigen-Schnelltests sind die einfache und kostengünstige Probengewinnung bzw. Testdurchführung, das Fehlen von Nebenwirkungen für Patientinnen und Patienten, sowie eine vergleichsweise hohe Spezifität (28). Die Durchführung ist nicht ortsgebunden und das Ergebnis ist zeitnah ablesbar, sodass der Schnelltest von Einzelpersonen in Praxen oder auch im privaten Setting ohne Zusatzausstattung durchgeführt werden kann. Gleiches gilt auch für den *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut. Eingesetzt wird der *H.p.* Koproantigen-Schnelltest als Screeningverfahren, im Rahmen der Erstdiagnostik und zur Erfolgskontrolle nach Eradikationstherapie, wo er standardmäßig durchgeführt wird (38).

1.5.3 Standarddiagnostik in Tansania

Laut aktueller Leitlinie zählen der *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, der RUT und der C13-Atemtest zu den empfohlenen Nachweisverfahren einer akuten *H.p.*-Infektion von tansanischen Patientinnen und Patienten (39). Ob und welches Verfahren zum Einsatz kommt, ist von verschiedenen Faktoren wie bspw. den lokalen Ressourcen und der Klinikausstattung abhängig.

1.6 Therapie zur *Helicobacter pylori*-Eradikation

Für eine Eradikationsbehandlung von *H.p.*-Infektionen stehen unterschiedliche Therapieschemata zur Verfügung. Das allgemeine Behandlungsprinzip basiert auf einer Kom-

⁷ Immunchromatographische Testverfahren basieren auf Antigen-Antikörper-Reaktionen und sind ein geeignetes Prinzip für Kassettenschnelltests. Das AG wird durch AK gebunden und mittels farbstoffmarkierten AK als farbige Banden sichtbar.

binationstherapie von unterschiedlichen Antibiotikaklassen mit einem PPI (40). Die Festlegung einer Erst- und Zweitlinientherapie ist länderabhängig.

Eine Gegenüberstellung der Therapieregime von Tansania und Deutschland sowie die entsprechende Zuordnung zu Erst- und Zweitlinientherapien bzw. alternativen Therapieschemata sind in *Tabelle 5* aufgeführt (2) (39).

Tab. 5: Etablierte Standardtherapien zur H.p.-Eradikation in Deutschland und Tansania (modifiziert nach der S2k-Leitlinie und den Standard Treatment Guidelines and Essential Medicines List aus Tansania)

Tansania	
<i>Erstlinientherapien</i>	
Tripletherapie	PPI + CL + Tinidazol
Tripletherapie	PPI + Amoxicillin (AMX) + Metronidazol (MNZ)
Deutschland	
<i>Erstlinientherapien</i>	
Tripletherapie (französisch)	PPI + AMX + CL
Tripletherapie (italienisch)	PPI + MNZ + CL
Konkommittierende Vierfachtherapie	PPI + CL + AMX + MNZ
Quadrupeltherapie*	PPI + Bismuth + Tetracyclin + MNZ
<i>Zweitlinientherapien</i>	
Fluorchinolon – Tripletherapie	PPI + LEV/MXF + AMX
Rifabutin – Tripletherapie**	PPI + LEV/MXF + RIB

* nach Therapieversagen der franz./ital. Tripletherapie als Zweitlinientherapie

** bei Penicillinunverträglichkeit

1.6.1 Indikationen und Therapieerfolg

Die Wahl des Therapieregimes wird unter Berücksichtigung von Kosten, regionalen Resistenzraten, bekannten Medikamentenallergien und Vorinfektionen bzw. stattgehabter Therapien der Patientin bzw. des Patienten getroffen (2, 17). Der Therapieerfolg wird neben der Compliance und der Therapiedauer im Wesentlichen von vorhandenen Resistenzen gegenüber des eingesetzten Antibiotikaregimes bestimmt, welche stark länder- und regionenabhängig sind (40, 41). Die Angaben zu Eradikationsraten unterscheiden sich daher bedeutend. Weltweit gesehen sind die Eradikationsraten unter den Standardtripeltherapien von über 80% im Jahr 1996 auf mittlerweile unter 70% gefallen (40, 42).

1.6.2 Clarithromycin als Therapiebestandteil

CL ist ein Breitspektrumantibiotikum, das bakteriostatisch wirkt und zur Gruppe der Makrolidantibiotika zählt. Makrolidantibiotika, so auch CL, inhibieren die bakterielle Proteinsynthese über Bindung an die 50S-Untereinheit von Ribosomen (43). Als fester Bestandteil der französischen und italienischen Tripeltherapie sowie der konkomittierenden Vierfachtherapie, zählt CL noch immer in vielen Regionen zur Erstlinientherapie von *H.p.*-Infektionen (2). Des Weiteren wird es bei Therapieversagen auch im Rahmen von alternativen Therapieschemata, bspw. im Zuge der Sequenztherapie⁸ eingesetzt (2). Die Wahl des Erstlinienregimes sollte unter Berücksichtigung der regionalen Resistenzlage und der Wahrscheinlichkeit einer primären Clarithromycinresistenz erfolgen (2, 44).

1.6.3 Levofloxacin und Moxifloxacin als Therapiebestandteile

Levofloxacin (LEV) und Moxifloxacin (MXF) gehören zur Gruppe 3 resp. 4 der FQ. Sowohl LEV als auch MXF wirken bakterizid und sind gut gewebeängig. Im Gegensatz zu Gruppe 1 (Norfloxacin) und 2 (Ciprofloxacin, Ofloxacin) der FQ erfassen LEV und MXF beide ein breites Erregerspektrum von grampositiven, gramnegativen und atypischen Bakterien (45, 46). Der Wirkmechanismus der neueren FQ basiert auf der Hemmung der bakteriellen Topoisomerase II (*syn.* DNA-Gyrase) und der Topoisomerase IV. Durch Hemmung beider Enzyme wird bakterielle DNA-Replikation verhindert (45, 46). LEV und MXF werden beide als Reservemedikamente in der Behandlung von *H.p.*-Infektionen gehandhabt und kommen i. d. R. erst nach Versagen der Erstlinientherapie zum Einsatz (*vgl. Tabelle 5*) (2). Ferner werden LEV und MXF auch als Reservemedikamente bei vorliegender Resistenz oder Unverträglichkeit gegenüber den Erstlinienmedikamenten in der Tuberkulosetherapie eingesetzt (47).

1.7 Antibiotikaresistenzen

Antibiotikaresistenzen lassen sich anhand unterschiedlicher Merkmale einteilen: Sie können entweder neu erworben sein oder aufgrund natürlicher Wirkungslücken, bspw. aufgrund natürlicher Permeabilitätsbarrieren⁹ oder fehlender Zielstrukturen, gegenüber Antibiotika bestehen. Dabei wird zwischen primären, bereits vor Therapiebeginn bestehenden Resistenzen und sekundären, sich erst im Verlauf oder nach der Therapie entwi-

⁸ Sequenztherapie: PPI p us AMX (Tag 1–5), PPI p us CL p us MNZ Tag 6–10.

⁹ Bspw. st de Ze wand gramnegat ver Bakter en n cht für Pen c n durch äss g.

ckelnden Resistenzen unterschieden. Erworbene Resistenzen basieren auf neu erlangten Eigenschaften, welche es den Mikroorganismen ermöglichen, sich der Wirkung antibiotischer Substanzen zu entziehen. Sie können durch Mutation und Selektion sowie durch Austausch oder Transfer von Resistenzgenen entstehen. Zu den erworbenen Resistenzen zählen Enzyme, die Antibiotika spalten und somit inaktivieren, Effluxpumpen, die eingedrungene Moleküle wie Antibiotika aus der Zelle hinausbefördern und Mutationen, die durch Modifikation der Zielstruktur die Bindung, Aufnahme oder Wirkung antimikrobieller Substanzen verhindern (48). Letzteres ist das für diese Arbeit relevante Prinzip. Das Risiko erworbener Resistenzen steigt durch den Einsatz antibiotischer Substanzen und ist nach wiederholter Therapie relevant erhöht (2).

1.7.1 Resistenzmechanismen von Makroliden und Fluorchinolonen

Makrolidresistenz am Beispiel von Clarithromycin

Im Wesentlichen sind zwei Resistenzmechanismen bekannt, die zu einer CL-Resistenz führen: Zum einen können *H.p.*-Stämme Effluxpumpen aufweisen, die durch aktives Ausschleusen des Antibiotikums die Bakterien vor eben diesem schützen (43). Zum anderen sind Punktmutationen innerhalb des 23S rRNA-Gens¹⁰ bekannt, die über eine herabgesetzte Bindungsfähigkeit von CL an das Ribosom die bakteriostatische Wirkung von CL verhindern (vgl. Tabelle 6) (49, 50). Letzteres wurde in dieser Arbeit näher untersucht. Unter den bekannten Mutationen stellen Punktmutationen von Adenin (A) zu Guanin (G) an den Positionen 2142, 2143 die beiden häufigsten dar (50-53).

Fluorchinoloneresistenz am Beispiel von Levofloxacin und Moxifloxacin

Der Haupt-Resistenzmechanismus gegenüber FQ besteht in einer genetischen Veränderung des *gyrA* Gens. Punktmutationen (vgl. Tabelle 6), die zu *in vitro* Resistenzen führen, befinden sich im *gyrA* Gen innerhalb der sogenannten Quinolone Resistance Determining Region (QRDR) und gehen mit einer verminderten Bindungsfähigkeit von FQ an das Enzym einher (45, 46). Für diese Studie wurde die QRDR auf das Vorliegen von resistenzverursachenden Punktmutationen hin untersucht. In geringerem Ausmaß sind Effluxpumpen als Resistenzmechanismus gegen FQ beschrieben, jedoch v. a. für FQ der Gruppe 1 und 2. Die neueren FQ wie LEV und MXF scheinen im Gegensatz zu

¹⁰ Die Punktmutationen befinden sich in dem für die Peptidyltransferase codierenden Bereich innerhalb der Domäne V, welche als molekulare Zielstruktur für CL gilt.

den Vorgänger-FQ (Bsp. Norfloxacin, Ciprofloxacin) insgesamt weniger anfällig für Resistenzentwicklungen zu sein. Gründe dafür werden zum einen in den unterschiedlichen Angriffsstrukturen (Topoisomerase II+ IV) und zum anderen in der untergeordneten Rolle von Effluxpumpen für FQ der neueren Generation gesehen (46).

Tab. 6: Genotypische CL- bzw. FQ- Resistenzmutationen
(modifiziert nach Garcia, Raymond et al. 2012)

Bekannte resistenzvermittelnde Mutationen im 23S rDNA-Gen	Bekannte resistenzvermittelnde Mutationen im gyrA-Gen
A2115 – G	D86 – N
G2141 – A	N87 – I / Y / K
A2142 – C / G / T	T87 – I
A2143 – C / G	A88 – P / V
A2144 – G	D91 – H / N / G / Y
	A97 – V

1.7.2 Resistenzraten von Makroliden und Fluorchinolonen

Der weltweite Antibiotikaverbrauch hat in den letzten Jahren rasant zugenommen und geht mit wachsenden Resistenzraten einher. Antibiotikakonsum und Resistenzraten sind dabei stark abhängig von der Region und sind im weltweiten Vergleich in einkommensschwachen Ländern besonders hoch (54).

Resistenzen gegenüber Clarithromycin weltweit

Weltweit ist der Anteil an clarithromycinresistenten *H.p.*-Stämmen in den letzten Jahren bedeutend gestiegen (2, 55, 56). Die Angaben zu Resistenzraten gegenüber CL variieren und sind stark länderabhängig (57). Laut verschiedener Studien werden international in unterschiedlichen Gebieten mittlerweile Primärresistenzraten von weit über 30% erreicht (32,3 % USA, 39,3% in Bangladesch, 40% in der Türkei, 47,1% in Griechenland, 45% im Iran, 50% in Portugal, 58% in Indien, 72% in Italien und 73% in China) (4, 57-60). In Deutschland stieg die Rate an primären Resistenzen in den letzten Jahren ebenfalls bedeutend an; im internationalen Kontext weist Deutschland jedoch mit knapp über 10% weiterhin vergleichsweise niedrige CL-Resistenzen auf (2, 61). Zu berücksichtigen ist, dass nach vorangegangener CL-Therapie wesentlich höhere Resistenzraten verzeichnet werden, die bis zu 100% erreichen können (2, 62).

Resistenzen gegenüber Levofloxacin weltweit

Die Resistenzraten gegenüber LEV sind in den vergangenen Jahren ebenfalls drastisch angestiegen und erreichen vielerorts mittlerweile vergleichbar hohe Werte wie Erstlinientherapeutika¹¹ (4, 5, 57, 63). Eine multizentrische Studie stellte 2013 eine gemittelte Primärresistenzrate von 14,1% gegenüber LEV für Europa fest (61). Ghotaslou et al. (2015) fand, unter Einbeziehung der Ergebnisse aus 87 Ländern, eine weltweite Resistenzrate von durchschnittlich 18,94% (14,19%-25,28%). Zu beachten ist außerdem die kontinuierliche Zunahme innerhalb der letzten Jahre an co-resistenten *H.p.*-Stämmen gegen CL und LEV (59, 64).

Prävalenz von Clarithromycin- und Levofloxacinresistenzen in Ostafrika respektive Tansania

Die Datenlage zu clarithromycin- und levofloxacinresistenten *H.p.*-Stämmen in Ostafrika einschließlich Tansania ist bislang sehr gering, deshalb soll diese Studie dazu beitragen, die Datenlage zu verbessern (48, 54). Abgesehen von den Studienergebnissen von Angol et al. (2017), die Resistenzraten von 29% gegenüber CL und 42% gegenüber FQ für Uganda beschreiben, liegen für die umliegenden ostafrikanischen Länder derzeit keine Daten zur Resistenzsituation vor (63). Die Studienlage für andere afrikanische Regionen ist besser, jedoch weisen die ermittelten Resistenzraten teilweise gegensätzliche Ergebnisse auf (65). Der Anteil an clarithromycinresistenten *H.p.*-Stämmen reicht von 0%, 1% und 1,7% in Gambia, im Senegal und im Kongo über 6,7% /15,3% in Südafrika und 15,4% in Tunesien bis hin zu 64% in Ägypten und 100% in Nigeria (56, 57, 66-68). Für levofloxacinresistente *H.p.*-Stämme sind weniger Ergebnisse bekannt; die ermittelten Resistenzraten liegen bei 10,2% für Südafrika, 15% für Senegal und bei 50% für die Demokratische Republik Kongo (57, 66, 68, 69).

1.8 Motivation und Zielsetzung

Die weltweit steigenden Antibiotikaresistenzen und die damit einhergehend stetig wachsende Zahl an therapeutischen Misserfolgen stellen eine große globale Herausforderung dar. Dies gilt auch für Infektionen mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* (*H.p.*), das mittlerweile sowohl gegen Standard- als auch gegen Reserveantibiotika alarmierend hohe

¹¹ 15,7% in Griechenland, Asien 19%, Vietnam 18,4%, China 20,6%, Brasilien 23%, Pakistan 62,3%, Bangladesch 66,1%.

Resistenzraten aufweist (2). Die vorliegende Arbeit skizziert die vielfältigen Problemdimensionen dieses Phänomens und zeigt den daraus folgenden dringenden Handlungsbedarf auf. Sie hat zum Ziel, eine sichere diagnostische Methode für Hp-Infektionen zu identifizieren, präventive Maßnahmen zur Infektionsreduktion zu eruieren und die Therapieerfolge durch einen gezielten Antibiotikaeinsatz zu erhöhen.

Um auch in Zukunft eine adäquate Behandlung von *H.p.*-Infektionen sicherstellen zu können, sind verlässlichere Daten zur Prävalenz und aktuellen Resistenzlage erforderlich. In der vorliegenden Untersuchung wurden deshalb die aktuellen Resistenzraten von *H.p.*-Stämmen beispielhaft in einem Referenzkrankenhaus in Tansania untersucht, mögliche Infektionsursachen hinterfragt und diagnostische Verfahren für *H.p.*-Infektionen im Hinblick auf ihre Anwendbarkeit in einem Land wie Tansania geprüft. Der afrikanische Kontinent weist im internationalen Vergleich bislang nur wenige Studien zur *H.p.*-Prävalenz und Antibiotikaresistenzlage auf (8, 59). Auch für Tansania ist die Studienlage zur aktuellen Prävalenz und Resistenzsituation von *H.p.*-Stämmen bislang unzureichend. Mit dieser Studie soll deshalb auch ein Beitrag dazu geleistet werden, die Datenlage für Tansania zu verbessern.

Zunächst wurde die Prävalenz von *H.p.*-Infektionen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) bei Patientinnen und Patienten¹² mit epigastrischen Beschwerden in Tansania erfasst. Im Anschluss erfolgte die genotypische Untersuchung auf bekannte Resistenzmutationen gegen CL - und FQ aller zuvor positiv getesteten Proben. Ziel dieser Untersuchung war, auf Basis der durch die molekulardiagnostische Resistenzanalyse gewonnenen Erkenntnisse Empfehlungen für die standardmäßig angewandten Therapieregime in Tansania abzuleiten. Eine Umstellung der Therapieempfehlung aufgrund neuer Erkenntnisse könnte durch den gezielten Einsatz wirksamer Antibiotika die Zahl an fehlgeschlagenen Therapien deutlich reduzieren.

Um bestmögliche Testverfahren für eine sichere Diagnostik identifizieren zu können, wurden in dieser Studie unterschiedliche Methoden für die *H.p.*-Diagnostik auf ihre Aussagekraft hin untersucht und anschließend miteinander verglichen. Die vielerorts standardmäßig angewandten diagnostischen Nachweismethoden sind in Ländern mit begrenzten Ressourcen wie Tansania aufgrund hoher Kosten und aufwendiger Diagnostik allerdings nur bedingt einsetzbar. Daher stellte sich die Frage nach einem kostengüns-

¹² Entsprechend der aktuellen Leitlinie der Gesellschaft für deutsche Sprache e. V. (Stand 11/2020) werden aus Gründen der besseren Lesbarkeit in dieser Arbeit lediglich weibliche und männliche Personenbezeichnungen verwendet. Es sind aber stets auch Personen des drittes/der/dritten Geschlechts gemeint.

tigen und gleichzeitig sicheren Testverfahren, dessen Etablierung in Tansania realisierbar ist. Vor diesem Hintergrund konzentrierte sich diese Studie auf die Untersuchung kostengünstiger Schnelltestverfahren, um eine verlässliche Alternativmethode zu den teuren und verhältnismäßig aufwendigen internationalen Goldstandards zu finden. Gleichzeitig wurde eine Datenerhebung durchgeführt, die mögliche Prädiktoren für *H.p.*-Infektionen erfassen sollte. Dabei stand die Frage im Mittelpunkt, ob sich im vorhandenen Studienkollektiv im Hinblick auf den sozioökonomischen Status oder spezifische Lebensgewohnheiten Assoziationen zu einer *H.p.*-Infektion identifizieren lassen. Mittels Fragebögen wurden Daten erhoben, welche anschließend auf begünstigende Faktoren hin untersucht und statistisch ausgewertet wurden. Das Ziel war mit den somit hinzugekommenen Informationen das Infektionsrisiko in Zukunft bereits präventiv, durch Veränderungen der als infektionsbegünstigend identifizierten Lebensgewohnheiten und Lebensumstände zu senken.

Die akute Brisanz der beschriebenen Thematik und die Notwendigkeit aktueller Informationen zur *H.p.*-Situation in Tansania ist offensichtlich. Die vorliegende Arbeit verfolgt daher das Ziel, basierend auf den erhobenen Daten Lösungsvorschläge für die dargestellte Problematik aufzuzeigen.

2 Material, Studienkollektiv und Methoden

2.1 Material

Geräte

Tab. 7: Übersicht über in der Studie eingesetzte Geräte

Beschreibung	Hersteller und Modell
Labor pH-Meter	PB-11 Basic Meter, Sartorius AG, Göttingen
Light Cycler	Light Cycler 2.0, F. Hoffmann-La Roche AG, Basel
Light Cycler Zentrifugenadapter	Light Cycler Centrifuge adapters, F. Hoffmann-La Roche AG, Base
Pipetten (10 µl, 100 µl, 1000 µl)	Reference, Eppendorf AG, Hamburg
Thermomixer	ThermoMixer Compact, Eppendorf AG, Hamburg
Vortexer	Reax Top Reagenzglasschüttler, Heidolph, Kehldorf
Zentrifugen	Centrifuge 5424, Eppendorf AG, Hamburg

Materialien

Tab. 8: Übersicht über in der Studie eingesetzte Verbrauchsmaterialien

Material	Spezifizierung und Hersteller
Alkoholtupfer	Alcohol Pads B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Blutlanzetten	Solofix, B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Einmalinjektionskanülen	Sterican Disposable Hypodermic Needles B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Glaskapillaren	20µl, Light-Cycler Kapillaren F. Hoffmann-La Roche AG, Basel
<i>H.p.</i> Antikörper-Schnelltest	<i>H. pylori</i> Schnell Testkassette SureScreen Diagnostics Limited, Derby Produktcode (UPC): HPT Bestellnummer (REF): 1155867803
<i>H.p.</i> Antigen-Schnelltest	SD Biotec <i>H. pylori</i> Ag SD STANDARD DIAGNOSTICS, INC. MT Promedt Consulting GmbH, St. Ingbert Bestellnummer (REF): 04FK20
Kapillarröhrchen	Heparinisierte Mikro-Hämatokrit-Kapillaren, Wilhelm Ulbrich GdB, Bamberg
Kryoröhrchen	1,8 ml Nunc Cryo Tube Vials Thermo Scientific, Roskilde
Mikrozentrifugenröhrchen	1.5 ml Safe-Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg
PCR-Reaktionsgefäße	0,2 ml PCR-Tubes, QIAGEN, Hilden
Pipettenspitzen (mit Filter)	10 µl, 100 µl, 1000 µl, Biosphere Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht
Stuhlprobenröhrchen	30 ml, 25 x 107 mm, Megro GmbH & Co. KG, Wesel
Zellstofftupfer	Tupfer 4x5cm Pur-Zellin Hartmann AG, Heidenheim

Reagenzien/ Reagenzienansätze

Tab. 9: Übersicht über in der Studie eingesetzte Reagenzien und Reagenzienansätze

Ansatz	Kommerzieller Kit
DNA-Aufreinigung	QIAquick PCR Purification Kit Qiagen, Hilden
DNA-Isolierung	QIAamp DNA Mini Kit Qiagen, Hilden
Real-Time PCR-Ansatz	LightCycler FastStart DNA Master Plus SYBR Green I, Roche, Mannheim
Taq-DNA-Polymerase	dNTP Pack (5 U/μl), Roche, Mannheim Bestellnummer: 04728858001 (Stand 2019)

Testlösungen

Tab. 10: Übersicht über in der Studie eingesetzte Chemikalien und Testlösungen

Testlösung	Lösungszusammensetzung
Ethanollösung (70%ig)	70 ml Ethanol (99,8%ig), Blulux Laboratories Ltd., Haryana 29,8 ml destilliertes Wasser
Formalinlösung (3,7%ig)	10 ml Formalin (37%ig), Diarim Enterprises Ltd., Nairobi 90 ml destilliertes Wasser
Urease Testlösung (500ml)	500 ml destilliertes Wasser Hefextrakt 0,05g Phosphatpuffer 0,07g Phenolrot 5ml Harnstoff 10g HCl zum Titrieren (Ziel-pH:5,4)

Oligonukleotide (Primer)

Die in dieser Arbeit eingesetzten Primer (vgl. Tabelle 11) dienen der Amplifizierung von Fragmenten des *gyrA*- bzw. 23S-rRNA Gens mittels qRT-PCR.

Tab. 11: Übersicht über in der Studie eingesetzte Oligonukleotide
(modifiziert nach Tankovic et al. 2003 (*gyrA*) und Ménard et al. 2002 (*HPY*))

Primer	Sequenz (5'→3')	Basenpaare (bp)	Annealing-Temp./ Elongationszeit
gyr A			
gyr A-1	TTTAGCTTATTCAATGAGCGT	428	55°C / 10 s
gyr A-2	GCAGACGGCTTGGTAGAATA		
23S			
HPY-S	AGGTTAAGAGGATGCGTCAGTC	267	63°C / 10 s
HPY-A	CGCATGATATTCCCATTAGCAGT		

Software

- EditSeq DNA, DNASTAR
- Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)
- Chromas Programm Version 2.1.1
- Microsoft Word Version 15.41
- Microsoft Excell Version 15.41
- SPSS Statistics Version 23

2.2 Studienkollektiv und Methoden

2.2.1 Darstellung des Studiendesigns

Studientyp und Setting

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Querschnittstudie mit der Erhebung von Primärdaten am Bugando Medical Center (BMC) in Mwanza, Tansania. Die Rekrutierung von Patientinnen und Patienten, die Fragebogenerhebung, die Probengewinnung und die Schnelltestdurchführung fanden im Zeitraum von August 2014 bis Oktober 2015 in der endoskopischen Abteilung des BMCs statt. Das BMC ist als Referenzkrankenhaus für den Nordosten Tansanias mit einer Bettenkapazität von über 950 Betten die Anlaufstelle für mehr als 14 Millionen Einwohner. Die molekulargenetische Auswertung wurde im Zeitraum von Februar 2015 bis Dezember 2015 im Institut für Medizinische Mikrobiologie in Göttingen durchgeführt.

Studienkollektiv

An der Studie nahmen ausschließlich ambulante Patientinnen und Patienten teil, die sich aufgrund von gastrointestinalen Beschwerden in der Klinik vorstellten. Alle Patientinnen und Patienten, bei denen aus medizinischer Indikation eine Ösophagogastroduodenoskopie (ÖGD) durchgeführt werden sollte, wurden informiert und gefragt, ob sie als Teilnehmende an der Studie mitwirken möchten.

Bei der Studienpopulation handelt es sich um eine selektive Stichprobenauswahl. Teilnehmen konnten ausschließlich Personen, die das 18. Lebensjahr vollendet hatten und eine dyspeptische Symptomatik aufwiesen. Die Studienteilnehmenden wurden in der endoskopischen Abteilung des BMCs konsekutiv rekrutiert, bis die angestrebte Fallzahl erreicht war. Die Teilnahme an dieser Studie erfolgte freiwillig und ohne Bezahlung. Die Studienteilnahme konnte von den Patientinnen und Patienten zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen vorzeitig beendet werden.

Ein- und Ausschlusskriterien

Als Grundvoraussetzung für die Teilnahme an dieser Studie mussten alle Ein- und Ausschlusskriterien erfüllt sein. Die einzelnen Kriterien sind zur Übersicht in *Tabelle 12* aufgelistet.

Tab. 12: Ein- und Ausschlusskriterien dieser Studie

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Dyspeptische Symptome ¹³	ÖGD nicht durchführbar
Vorliegende unterschriebene Einverständniserklärung	PPI oder Antibiotikaeinnahme innerhalb der vorangegangenen 30 Tage
Alter >18 Jahre	Quick < 60 bzw. INR > 1,35

Fallzahlberechnung

Die Fallzahl dieser Studie wurden mittels Leslie Kish Formel berechnet:

$$N = \frac{(Z_{1-\alpha})^2(P(1 - P))}{D^2}$$

D = 0,05	Präzision
Z _{1-α} = 1,96	Konfidenzintervall
P = 0,87	Prävalenz

Laut einer japanischen Studie der medizinischen Fakultät in Oita waren im untersuchten Studienzeitraum 87% der Bewohnerschaft Tansanias mit *H.p.* infiziert (11). Anhand der obenstehenden Formel und unter Hinzunahme der zuvor ermittelten Prävalenz von 87%, wurde eine erforderliche Stichprobengröße von mind. 174 Personen berechnet. Um ein Unterschreiten der errechneten Fallzahl, auch im Falle einzelner Drop-Outs, zu vermeiden, hatte diese Studie das Ziel, insgesamt 180 Probanden mit dyspeptischen Beschwerden zu rekrutieren.

Ethische Aspekte

Im Vorlauf der Studie wurde ein Ethikantrag an das Ethikkomitee des BMCs und der Catholic University of Health and Allied Sciences (CUHAS) in Mwanza, Tansania, gestellt und genehmigt (Research Clearance Certificate No: CRQC/036b/2014, (vgl. Appendix IV.c)). Die potentiellen Studienteilnehmenden wurden einzeln von Muttersprachlerinnen und Muttersprachlern auf Kiswahili über das Procedere der Studie aufgeklärt. Alle teilnehmenden Patientinnen und Patienten willigten schriftlich in die Stuhl- und Blutuntersuchungen ein und versicherten ihr Einverständnis für die zusätzlich entnommene Magenbiopsie zur weiterführenden Diagnostik. Jeder Proband erhielt sowohl einen Aufklärungsbogen auf Kiswahili als auch einen auf Englisch. Aus Datenschutzgründen bekamen alle Probanden ein Pseudonym zugeteilt. Fragebögen, Gewebeproben sowie die

¹³ Dyspeptische Symptome wurden definiert als das Vorliegen von mind. einem der folgenden Symptome: Oberbauchschmerzen, Appetitverlust, Vögegefühl, Aufstoßen, Verdauungsbeschwerden, Blähungen, Übelkeit, Erbrechen, Sodbrennen, Durchfall, GI-Blutungszeichen (bspw. Symptome einer Anämie).

Schnelltests wurden mit dem zugeteilten Pseudonym versehen. Die personenbezogenen Daten wurden separat notiert und konnten demnach nur unter Hinzunahme der Liste auf denen die Pseudonyme standen mit den Testergebnissen in Zusammenhang gebracht werden. Durch die Vergabe eines Pseudonyms konnte nach Vorlage der Resistenzbestimmung im Falle einer notwendigen Therapieanpassung eine Befundmitteilung erfolgen.

Benefit für Teilnehmende

Die Infektionsdiagnostik war für alle Probanden kostenlos. Der *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, der *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut und der RUT wurden alle am Tag der Intervention durchgeführt. Die Testergebnisse konnten den Patientinnen und Patienten daher umgehend mitgeteilt und eine Therapie, im Falle einer Infektion, eingeleitet werden. Allen Teilnehmenden wurde zusätzlich eine in Deutschland durchgeführte molekulargenetische Diagnostik einer Magenbiopsie ermöglicht, welche im BMC nicht durchführbar war. *H.p.*-positive Proben wurden anschließend auf das Vorliegen von Resistenzmutationen hin untersucht. Die Probanden wurden nach Abschluss der molekulargenetischen Diagnostik für die Ergebnismitteilung erneut kontaktiert und einbestellt. In einem persönlichen Beratungsgespräch wurde das weitere therapeutische Vorgehen mit ihnen besprochen. Bei persistierender Infektion mit *in vitro* nachgewiesenen Resistenzmutationen wurde die Therapieempfehlung entsprechend dem Resistenzprofil angepasst.

2.2.2 Durchführung der Studie

Fragebogenerhebung

Die Fragebögen wurden den Patientinnen und Patienten auf Englisch ausgeteilt. Beim Ausfüllen der Dokumente standen ihnen geschulte Studienmitarbeiterinnen und -mitarbeiter unterstützend zur Seite und übersetzten die Fragen bei fehlenden Sprachkenntnissen. Im Zuge der Fragebogenausarbeitung wurden die in der Literatur beschriebenen infektionsassoziierten Faktoren berücksichtigt. Der Fragebogen schließt Fragen zu soziodemographischen Merkmalen, zu Lebensgewohnheiten- und Lebensumständen sowie infektionsspezifische Fragen mit ein.

Diagnostische Methoden

Im Rahmen der Arbeit wurden die Patientinnen und Patienten unter Verwendung unterschiedlicher Testverfahren auf das Vorliegen einer *H.p.*-Infektion hin untersucht. Das angestrebte Ziel dabei war eine zuverlässige, sichere Testmethode ausfindig zu machen, deren Etablierung unter den örtlichen Voraussetzungen potentiell realisierbar ist. Unter Berücksichtigung der anfallenden Kosten, des apparativen und zeitlichen Aufwands und den lokalen Bedingungen im BMC, fiel die Entscheidung für die *H.p.*-Diagnostik auf die drei Schnelltestverfahren *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut, *H.p.* Koproantigen-Schnelltest und den RUT. Die jeweilige diagnostische Aussagekraft wurde ermittelt und im Anschluss mit den PCR-Ergebnissen als Referenzverfahren verglichen. Ursprünglich war zusätzlich eine histologische Auswertung geplant, deren Ergebnisse zusammen mit den PCR- Ergebnissen als Referenzwerte dienen sollten. Die Histologie wird wegen hoher Sensitivitätswerte vielerorts als Goldstandard gehandhabt (7) und ist in der Anwendung weniger material- und kostenintensiv als die PCR. Aus den genannten Gründen sollte auch die histologische Auswertung Bestandteil dieser Arbeit sein und in den Testvergleich mit eingehen. Aufgrund von beschädigtem Material konnte die histologische Auswertung in Deutschland letztendlich nicht durchgeführt werden.

Die Entscheidung fiel gegen den C13-Atemtest und die Kultur aus, weil beide Tests die Voraussetzungen für eine mögliche Etablierung in Mwanza nicht erfüllten: Entscheidend für den Ausschluss des C13-Atemtests waren die hohen Kosten und der apparative Aufwand, die beide nicht mit den lokalen Gegebenheiten in Tansania vereinbar sind. Die Kultur hingegen wird wegen der vergleichsweise geringen Sensitivität i. d. R. nicht im Bereich der Primärdiagnostik, sondern in der Resistenztestung eingesetzt (2). Sie wurde daher aus dem Testvergleich, der sich auf die Primärdiagnostik bezog, ausgeschlossen.

Antikörperserologie

Der SureScreen Schnelltest ist ein qualitatives Testverfahren, das humane IgG-AK gegen *H.p.* nachweist. Das Prinzip basiert auf einem chromatographischen Immunoassay, bei dem sich AK aus dem Blut an *H.p.*-Antigene innerhalb der Testkassette binden, wodurch es zu einem Farbumschlag kommt. Bei positivem Ergebnis wird neben der Kontrolllinie eine zweite rote Linie sichtbar (*vgl. Abbildung 1C*). Den Testpersonen wurde mittels Kapillarröhrchen ca. 50 µl Vollblut aus der Fingerkuppe entnommen und in die Probenvertiefung der Testkassette gegeben. Nach Hinzugabe von einem Tropfen Pufferlösung und einer anschließenden Wartezeit von 10 Minuten konnte das Ergebnis ab-

gelesen werden: Erschienen zwei rote Linien, Kontrolllinie (C) und Testlinie (T), war der Test als positiv zu bewerten (vgl. *Abbildung 1C*). War ausschließlich die Kontrolllinie zu sehen, war der Test gültig, aber als negativ zu bewerten (vgl. *Abbildung 1B*). Blieb die Kontrolllinie aus, war das Testergebnis ungültig und der Test musste wiederholt werden (vgl. *Abbildung 1D*).

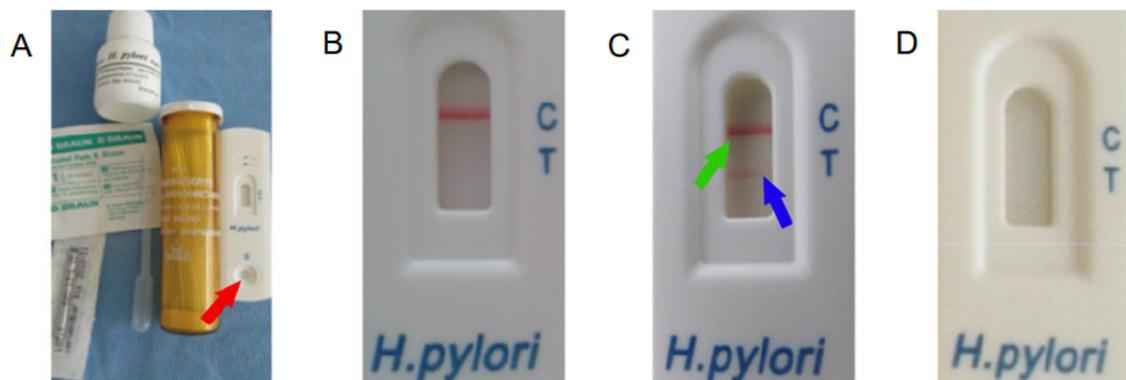


Abb. 1: Testmaterialien und mögliche Testergebnisse des SureScreen Schnelltests
Das benötigte Material mit der Probenvertiefung (rote Pfeil) der Testkassette (A). Das Sichtfenster eines negativen Testergebnisses (B), eines positiven Testergebnisses (C) mit eingefärbter Test- (blauer Pfeil) und Kontrolllinie (grüner Pfeil) und das Sichtfenster eines ungültigen Testergebnisses (D).

H.p. Koproantigen-Schnelltest

Auch der SD Bioline Ag-Schnelltest (vgl. *Abbildung 2*) dient dem qualitativen Nachweis von *H.p.*-Infektionen. Das Testprinzip entspricht wie bei der Antikörperserologie dem chromatographischen Immunoassay (s. o.). Von allen Patientinnen und Patienten wurde am Tag der Untersuchung eine Stuhlprobe eingesammelt. Mit dem Abstrichtupfer wurde dann eine etwa 50 mg große Stuhlportion entnommen und in das mit Testverdünner gefüllte Probenröhrchen überführt. Nach fünfminütiger Einwirkzeit wurden je drei Tropfen in die Probenmulde gegeben. Die Ablesung des Testergebnisses erfolgte ebenfalls nach einer Wartezeit von zehn Minuten und entspricht in der Interpretation dem Prinzip des SureScreen Schnelltests.

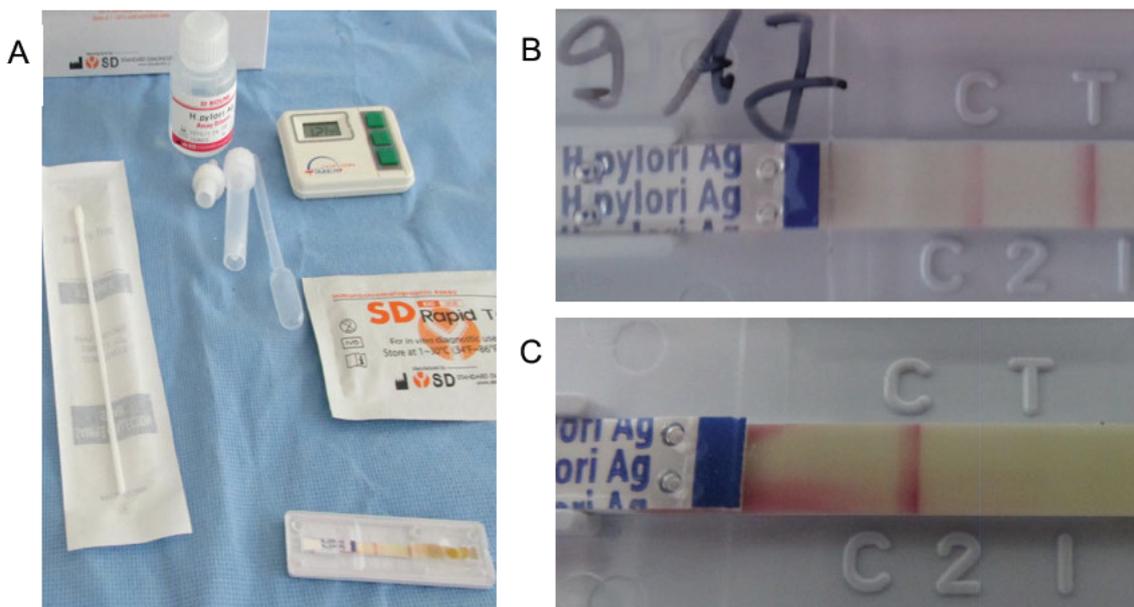


Abb. 2: Testmaterialien und mögliche Testergebnisse des Bioline Ag-Schnelltests
Das benötigte Material (A). Das Sichtfenster eines positiven (B) und eines negativen Testergebnisses (C).

Biopsiegewinnung für invasive Verfahren

Für die in dieser Arbeit angewandten invasiven Verfahren wurde je eine ca. 2mm große Biopsie aus dem Magenantrum einer jeden Patientin und eines jeden Patienten entnommen. Angestrebt war eine diagnostische Auswertung mittels RUT, Histologie und PCR, sodass für diese Studie pro Patientin bzw. pro Patient drei Biopsien entnommen worden sind. Die verwendeten Gewebeproben stammen alle von tansanischen Probanden, die sich aus medizinischer Indikation einer ÖGD unterzogen (vgl. Abbildung 3). Vor Beginn der endoskopischen Untersuchung musste von allen Teilnehmenden ein aktueller, max. 24 Stunden alter Quick/INR-Wert von >60 bzw. $<1,35$ vorliegen, sodass ein erhöhtes Blutungsrisiko ausgeschlossen werden konnte.



Abb. 3: Ösophagogastroduodenskopie mit Biopsiegewinnung

Urease-Schnelltest

Für die Durchführung des RUTs wurden die frisch entnommenen Gewebeproben umgehend in ein mit Urease-Testlösung befülltes Eppendorfgefäß platziert. Es wurde darauf geachtet, dass die Biopsie vollständig vom Testmedium bedeckt war. Die Eppendorfgefäße wurden anschließend für max. 24 Stunden unter Raumtemperatur gelagert. Nach 20 Minuten, einer Stunde, zwei Stunden und abschließend erneut nach 24 Stunden wurde überprüft, ob ein Farbumschlag von gelb nach rot-violett als Zeichen eines pH-Anstiegs beobachtet werden konnte. War es nach max. 24 Stunden zu einem eindeutigen Farbumschlag des Testmediums nach rosa/rot gekommen, wurde dies als positives Testergebnis gewertet (vgl. *Abbildung 4B*). War die Farbe der Lösung unverändert gelb, wurde von einem negativen Ergebnis ausgegangen (vgl. *Abbildung 4A*). Die Auswertung vom RUT beschränkte sich in dieser Arbeit auf ein positives oder negatives Testergebnis, unabhängig vom zeitlichen Eintreten des Farbumschlags. Der Ausgangs-pH der Urease-Testlösung wurde regelmäßig anhand eines pH-Meters überprüft und falls nötig mittels Salzsäure auf einen pH von 5,4 durch Titration korrigiert.

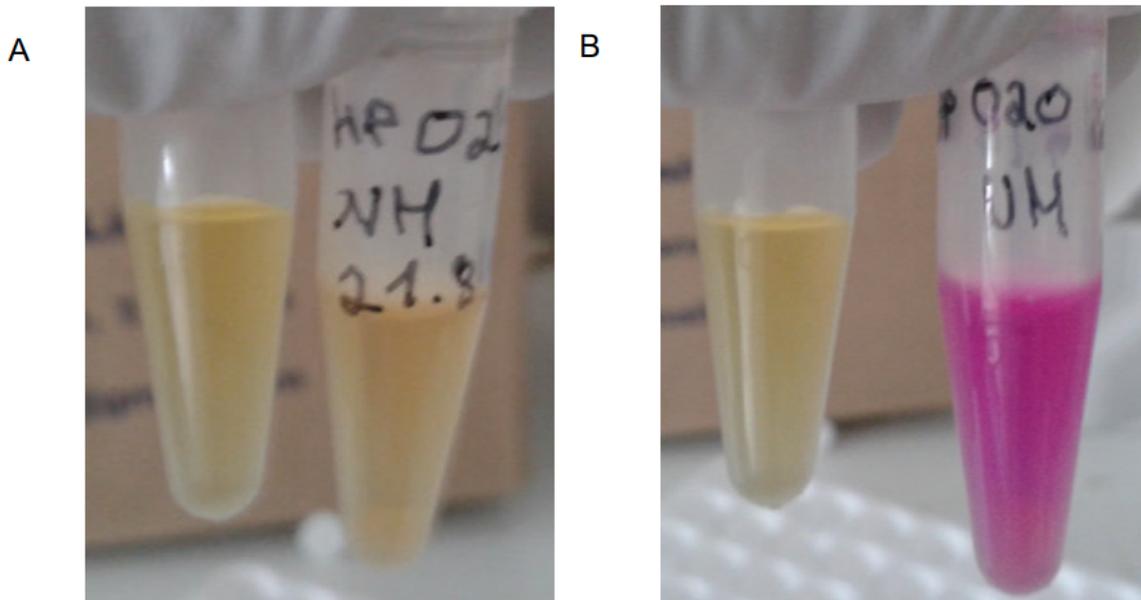


Abb. 4: Mögliche Testergebnisse des RUTs
 Negatives Testergebnis: Indikatorlösung ohne Farbumschlag (A). Positives Testergebnis: Indikatorlösung mit Farbumschlag (B).

Histologie

Für die geplante histologische Auswertung wurden die Gewebeproben in ein mit 4%iger Formalinlösung gefülltes Cryo Vial platziert und aufbewahrt. Die fixierten Biopsien wurden anschließend nach Deutschland transportiert und sollten in der Pathologie der Universität Würzburg aufgearbeitet und ausgewertet werden. Aufgrund eines unbekanntem Fixierungsfehlers war das Material nach einer zeitlichen Latenz, bedingt durch verlängerte Lagerungs- und Transferzeiten, leider nicht mehr beurteilbar. Die histologische Auswertung konnte daher nicht zu Ende geführt werden. Eine Aussage über den histologischen Direktnachweis von Bakterien ist somit im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

Molekularbiologische Methoden

Von allen Patientinnen und Patienten wurde eine Magenbiopsie mittels quantitativer Real-Time-PCR auf vorhandene *H.p.*-DNA hin untersucht. Die Biopsien für die PCR wurden nach Entnahme in ein mit 70%igem Ethanol gefülltes Cryo Vial überführt und nach Göttingen in die Abteilung der Medizinischen Mikrobiologie transportiert und vor Ort weiterbearbeitet.

DNA-Isolierung

Zur Aufreinigung der DNA aus den Magenbiopsien wurde das QIAamp DNA Mini Kit verwendet. Die einzelnen Schritte wurden entsprechend der Anleitung vom Hersteller durchgeführt. Zur Elution der genomischen DNA wurde die Puffermenge von 200 µl auf 100 µl reduziert und die Inkubationszeit auf fünf Minuten verlängert. Pro Durchgang durchliefen maximal neun Biopsien das Prozedere. Bei jedem Durchgang lief eine zusätzliche Leerprobe als Aufarbeitungskontrollprobe mit, um eine Kontamination während des Aufbereitungsprozesses am Ende demaskieren zu können.

Quantitative RT – PCR im Light-Cycler 1.5

Zur Herstellung des PCR Ansatzes wurden anteilig 5 µl der extrahierten DNA, 7 µl H₂O, 4 µl des Mastermixes und 4 µl der jeweiligen Primer in eine PCR-Kapillare zusammenpipetiert. Die Kapillaren wurden für ca. 10 Sek. bei 3000 rpm zentrifugiert und die PCR im Anschluss im Light Cycler 1.5 entsprechend der in *Tabelle 13 und Tabelle 14* aufgeführten Protokolle durchgeführt. Als Bestandteil des Mastermixes bindet der Fluoreszenzfarbstoff SYBR Green I an die vorhandenen DNA-Doppelstränge (ds-DNA). Die Fluoreszenz steigt mit zunehmender Amplifikation der ds-DNA mit jedem Zyklus weiter an. Der Light Cycler misst, in welchem Zyklus die so erzeugte Fluoreszenz das Hintergrundsignal übertrifft. Dieser Zyklus wird als Crossing Point (CP-Wert) bezeichnet und kann zur Quantifizierung der einzelnen Proben herangezogen werden. Sowohl bei der Herstellung des PCR-Ansatzes, als auch bei dem anschließenden PCR-Durchlauf liefen je eine Positiv- und eine Negativkontrollprobe mit, um auch bei diesen Abläufen ein Fehlschlagen der PCR Reaktion bzw. eine Kontamination sicher ausschließen bzw. identifizieren zu können.

Tab. 13: qRT-PCR Light Cycler Programm: Helicobacter Pylori 23S-Gen

Reaktionsschritt	Temperatur in °C	Zeit in Sekunden
Anfangsdenaturierung	95°C	600 s
Amplifikation á 40 Zyklen	95°C	10 s
	63°C	10 s
	72°C	20 s
Schmelzkurve	95°C	0 s
	65°C	15 s
	99°C	0 s
Kühlung des PCR-Produkts	40°C	30 s

Tab. 14: *qRT-PCR Light Cycler Programm: Helicobacter pylori gyrA-Gen*

Reaktionsschritt	Temperatur in °C	Zeit in Sekunden
Anfangsdenaturierung	95°C	600 s
Amplifikation	95°C	10 s
á 40 Zyklen	55°C	10 s
	72°C	20 s
Schmelzkurve	95°C	0 s
	65°C	15 s
	99°C	0 s
Kühlung des PCR-Produkts	40°C	30 s

DNA-Aufreinigung und Sequenzierung

Von allen positiv getesteten Proben wurde das amplifizierte PCR-Produkt gesichert, aufgereinigt und anschließend sequenziert. Zur Sicherung des PCR Produkts wurden die Kapillaren einzeln ohne Deckel umgekehrt in ein Eppendorfgefäß gestellt und kurzzeitig zentrifugiert, um das PCR-Produkt ins Eppendorfgefäß zu überführen. Die DNA-Aufreinigung erfolgte anschließend mithilfe des QIAquick PCR Purification Kit Qiagen entsprechend der Anleitung. Die einzelnen Bestandteile der Sequenzierungsansätze (*vgl. Tabelle 15*) wurden gemäß der Zusammensetzung in ein Eppendorfgefäß pipettiert und anschließend mit einer Sequenzierungsnummer versehen. Die DNA-Sequenzierung der PCR Produkte wurde von der Firma Microsynth SeqLab GmbH in Göttingen durchgeführt.

Tab. 15: *Sequenzierungsansätze für das 23S- und gyrA-Gen*

23S-Gen	gyrA-Gen
5 µl DNA (PCR-Produkt)	9 µl DNA (PCR-Produkt)
6 µl Primer HPY-S (5 µM)	6 µl Primer <i>gyrA</i> -1 (5 µM)
4 µl H ₂ O	

2.3 Datenverarbeitung und Auswertung

2.3.1 Statistische Analyse

Fragebogenauswertung

Für die statistische Auswertung wurde die Version 23 des IBM SPSS-Statistics-Programms verwendet. Mittels Fragebogen wurden sowohl metrische Parameter (BMI und Alter), als auch kategoriale Parameter erhoben (vgl. *Tabelle 17, 18*) und statistisch analysiert. Die verwendete Unterteilung der metrischen Merkmale Alter und BMI ist in *Tabelle 16* aufgeführt. Zur Untersuchung der Häufigkeitsverteilung von Alter und BMI wurden deskriptive Parameter wie Mittelwert, Standardabweichung (SD), Minimum und Maximum ermittelt. Der Kolmogorow-Smirnow-Test (KS-Test) wurde angewandt, um zu prüfen, ob die Merkmale Alter und BMI eine Normalverteilung aufweisen (vgl. *Tabelle 19 und 21*). Für die Unabhängigkeitstestung der Merkmale Alter bzw. BMI gegenüber *H.p.*-Infektionen wurde der Mann-Whitney-U-Test (U-Test) eingesetzt. Die nominalskalierten Merkmale wurden für die weitere Untersuchung unter vordefinierte Kategorien subsumiert und die Häufigkeitsverteilung der untersuchten Merkmale ermittelt (vgl. *Tabelle 17*). Anschließend wurden die trichotomen und polytomen Variablen dichotom nominalskaliert (vgl. *Tabelle 18*). Für die Unabhängigkeitstestung der kategorialen Variablen wurden der Pearson Chi-Quadrat- und der Exakte Fisher-Test verwendet. Mittels binärer logistischer Regression wurde der Zusammenhang zwischen der Wahrscheinlichkeit einer *H.p.*-Infektion (resp. PCR-positiv) als Zielvariable und ausgewählten Merkmalsausprägungen als unabhängige Variablen untersucht. Die Auswahl der statistisch analysierten Merkmalsausprägungen basiert auf den in der Literatur beschriebenen Prädiktoren für eine *H.p.*-Infektion (vgl. *Abschnitt 1.2*). Eine Zusammenfassung der untersuchten Merkmale unter Nennung des jeweiligen Skalenniveaus zeigt *Tabelle 18*. Die Ergebnisse werden mittels Odds Ratio (OR) inklusive zugehörigem Konfidenzintervall dargestellt (vgl. *Tabelle 24*). Das Signifikanzniveau (resp. Irrtumswahrscheinlichkeit) wurde für alle statistischen Tests dieser Arbeit auf $\alpha = 0,05$ festgelegt.

Tab. 16: Metrische Definition der Merkmale Alter und BMI
(modifiziert nach WHO, 2000)

Alter	BMI (kg/m ²)	Ernährungszustand
18-29 (25.Perzentile)	<16	Starkes Untergewicht
30-39 (50.Perzentile)	16-16,9	Mäßiges Untergewicht
40-49 (75.Perzentile)	17-18,4	Leichtes Untergewicht
	18,5-24,9	Normalgewicht
	25-29,9	Präadipositas
	30-34,9	Adipositas Grad I
	35-39,9	Adipositas Grad II
	≥ 40	Adipositas Grad III

Tab. 17: Kategoriale Definition der für diese Studie relevanten nominalen Variablen

Variable	Merkmal/ Ausprägung			
	Kategorie I	Kategorie II	Kategorie III	Kategorie IV
Familienstand	Alleinlebend	Partnerschaft		
Haushaltsgröße	≤ Personen	≥ 5 Personen		
Wohnregion	Land	Vorstadt	Stadt	
Bildungsgrad	Keiner	Grundschule	Oberschule	Universität
Trinkwasserquelle	Rohwasser	aufbereitetes Wasser		
Sanitäranlage	Keine/ Latrine	Wasserspülung		
Fleischkonsum	Selten ≤3x/7d	Häufig ≥3x/7d		
Rauchen	Nein	Ja		
Symptome ¹⁴	Nein	Ja		
Regelmäßige Medikamenteneinnahme	Nein	Ja		
Vorherige <i>H.p.</i> -Infektion	Nein	Ja		
Vorh. <i>H.p.</i> -Behandlung	Nein	Ja		
<i>H.p.</i> -Infektion bei Angehörigen	Nein	Ja		

¹⁴ Für alle abgefragten Symptome wurde die gleiche Kategorie Definition verwendet.

Tab. 18: Zusammenfassung der untersuchten Merkmale unter Nennung des Skalenniveaus

Merkmal	Merkmalsausprägung		Skalenniveau
Alter	Jahre		Verhältnisskala, metrisch
BMI	kg/m ²		Intervallskala, metrisch
Geschlecht	Weiblich	Männlich	Nominalskala, kategorial
Partnerschaft	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Großer Haushalt (≥ 5 Personen)	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Vor-/Städtische Wohnregion	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Niedriger Ausbildungsstand (≙ Kein Abschluss, Grundschule)	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Rohwasser	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Niedriger hygien. Standard (≙ keine Sanitäranalge/Latrine)	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Häufiger Fleischkonsum (3x/wo.)	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Rauchen	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Blähungen	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Übelkeit	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Erbrechen	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Sodbrennen	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Durchfall	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
GI-Blutungszeichen	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Regelm. Medikamenteneinnahme	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Vorh. <i>H.p.</i> -Infektion	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
Vorh. <i>H.p.</i> -Behandlung	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial
<i>H.p.</i> -Infektion bei Angehörigen	Ja	Nein	Nominalskala, kategorial

Vergleich diagnostischer Schnelltestmethoden für *Helicobacter pylori*

Für die statistische Analyse der Testvergleiche wurden die Testgütekriterien Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert (PPW) und negativer prädiktiver Wert (NPW) berechnet. In dieser Studie wurden ausschließlich dichotome Variablen angewandt. Die

Ergebnisse der binären Variablen: 1. *H.p.*-Infektion: Ja/ Nein und 2. Test: positiv/ negativ, wurden in eine Vierfeldertafel (zweidimensionale Kontingenztafel) übertragen und anschließend die oben genannten Parameter ermittelt. Um das Übereinstimmungsmaß der Testergebnisse zu beurteilen, wurde zusätzlich der Cohens-Kappa-Koeffizienten (κ) bestimmt. Für diese Studie wurde die qRT-PCR als Goldstandard verwendet. Die PCR-Ergebnisse wurden daher als Referenzwerte für den diagnostischen Testvergleich eingesetzt. Die Einzelergebnisse sowie die kombinierten Testergebnisse von *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut und RUT wurden dem PCR-Ergebnis gegenübergestellt und der Kappa-Koeffizient berechnet. Die Interpretation des Kappa-Koeffizienten orientiert sich an der Kategorisierung von Altmann (70).

2.3.2 Molekulargenetische Auswertung

Die Auswertung der sequenzierten DNA-Abschnitte und der Abgleich mit der Wildtypsequenz (WT) erfolgte mit Hilfe des Sequenzalignment Programms Clustal Omega. Für die Auswertung der Sequenzierungsergebnisse wurden die Programme Microsoft Excel 15.41 und Chromas 2.1.1 verwendet. Die Daten wurden anschließend in Microsoft Word 15.41 übertragen und aufgelistet.

3 Ergebnisse

3.1 Beschreibung der Stichprobe

Nach Berücksichtigung der in Kapitel 2.2.1 beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien wurden initial 219 Personen für eine Aufnahme in die Studie evaluiert. 207 von ihnen wurden in die Studie eingeschlossen. Der Dropout von insgesamt 12 Patientinnen und Patienten liegt im Folgenden begründet: Sieben von ihnen nahmen an den Vor- und Aufklärungsgesprächen teil, erschienen jedoch nicht zum vereinbarten Untersuchungstermin. Bei fünf Untersuchten konnten aufgrund von Blutungen oder Passagehindernissen keine Biopsien entnommen werden, sodass auch sie aus der Studie exkludiert wurden. Ein vollständiger Datensatz aller untersuchten Merkmale und Testverfahren lag somit zum Zeitpunkt der Auswertung von 133 Patientinnen und Patienten vor.

Fragebogenauswertung

Insgesamt wurden in die Auswertung 203 ausgefüllte Fragebögen eingeschlossen. Ein Dropout von vier der 207 eingeschlossenen Personen wurde verzeichnet, da uns von den tansanischen Mitwirkenden von diesen Teilnehmenden kein Fragebogen zugesandt wurde. Bei 182 der 203 beantworteten Fragebögen wurden alle Items ausgefüllt. Bei 21 von ihnen wurden zwischen einer und vier Fragen nicht beantwortet. Eine reduzierte Stichprobengröße aufgrund unbeantworteter Fragen fand sich bei 12 der 26 untersuchten Merkmale, wobei innerhalb einer Kategorie maximal 4 Angaben fehlten. Ein Informationsverlust durch Verwerfen unvollständig ausgefüllter Fragebögen sollte vermieden werden, daher wurden die betroffenen Fragebögen jeweils unter Ausschluss der unbeantworteten Merkmale trotzdem in die Untersuchung mit eingeschlossen (vgl. *Tabelle 20,22 und 23*).¹⁵

Prävalenzbestimmung von *Helicobacter pylori*-Infektionen

Die Prävalenzbestimmung von *Helicobacter pylori*-Infektionen mittels qRT-PCR basiert auf der Auswertung von 204 Biopsien. Bei drei der 207 Gewebeproben war aufgrund transport- bzw. lagerungsbedingter Schäden die molekulargenetische Diagnostik nicht durchführbar (vgl. *Abschnitt 3.2.1*).

¹⁵ Eine reduzierte Anzahl gültiger Fälle findet sich bei den Merkmalen Beruf: 200, BMI: 200, Alter: 202 Familienstand: 201, Haushaltsgröße: 202, Wohnregion: 202, Wasserversorgung: 200, Sanitäranlage: 199, Fleischkonsum: 200, Verdauungsprobleme: 202, Erbrechen: 202, Sodbrennen: 202, vorangegangene Gastroskopie: 202.

Untersuchung diagnostischer Schnelltestverfahren

Die Anzahl der untersuchten Schnelltestverfahren reduzierte sich durch Dropout-Fälle auf 202 für den *H.p.*-Antigen-Schnelltest, 157 für den *H.p.*-Antikörpertest und 188 für den RUT. Während der Studie kam es zu Lieferschwierigkeiten von *H.p.*-Antikörper- und Antigen-Schnelltestkassetten, woraus reduzierte Stichprobengrößen für beide Testverfahren resultierten. Ursächlich für die reduzierte Stichprobengröße des RUTs war ein pH-Umschlag der Urease-Testlösung. Von 148 Personen lagen Testergebnisse von allen durchgeführten Testverfahren vor.

3.2 Fragebogenauswertung

3.2.1 Deskriptive Beschreibung des Studienkollektivs

Die Datenerhebung mittels Fragebögen basiert auf einem Studienkollektiv von 203 Personen (vgl. Abschnitt 3.1). Die Anzahl gültiger Fälle unterscheidet sich und wird für das jeweilige Merkmal einzeln angegeben. Basierend auf der jeweiligen Anzahl gültiger Fälle erfolgt die Signifikanzprüfung der Merkmalsausprägung in Abhängigkeit vom PCR-Status.

Soziodemographie des Studienkollektivs

Die befragten Studienteilnehmenden waren bei Testdurchführung zwischen 18 und 82 Jahren alt (vgl. Abbildung 5). Das Durchschnittsalter lag bei 42 Jahren. Das Alter des untersuchten Kollektivs entsprach bei einer SD von 14,87 allerdings nicht der Normalverteilung (vgl. Tabelle 19 und Abbildung 5).

Tab. 19: Häufigkeitsverteilung vom Alter

Kennwert	Min.	Max.	SD	Mittelwert	Asymptotisch Signifikanz (2-seitig)
Alter (N=202)	18	82	14,87	41,77	0,002

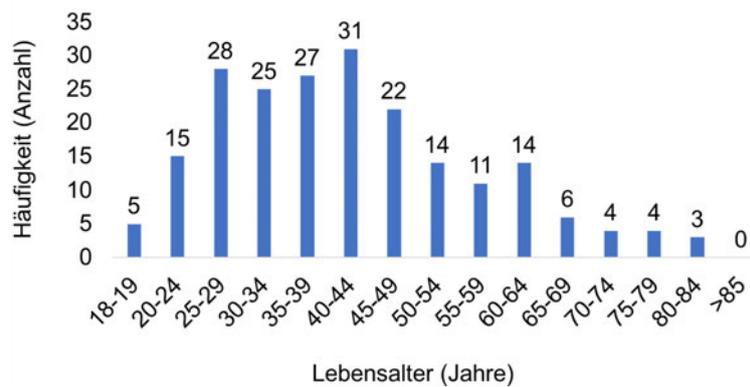


Abb. 5: Altersverteilung

Die Geschlechterverteilung war mit 101 männlichen und 102 weiblichen Teilnehmenden ausgeglichen. Der Anteil PCR-positiv getesteter Frauen war mit 94,1% zwar geringfügig höher als jener der Männer (90,1%), der Unterschied ist jedoch nicht signifikant (vgl. *Tabelle 20*). Auch die Prüfung der übrigen Merkmale wies keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des PCR-Status auf.

In *Tabelle 20* werden die soziodemographischen Eigenschaften der Stichprobe in Gegenüberstellung mit dem PCR-Status dargestellt.

Tab. 20: Häufigkeitsverteilung soziodemographischer Faktoren in Gegenüberstellung mit dem PCR Status

Merkmal/ Ausprägung	Gültige Anzahl (N_{gesamt} = 203)	PCR Negativ (n_{gesamt} = 16)	PCR Positiv (n_{gesamt} = 187)	p-Wert
Alter (Median in Jahren)	202	44	40	n. s.
Geschlecht	203			
Weiblich	102 (50,2%)	6 (5,9%)	96 (94,1%)	n. s.
Männlich	101 (49,8%)	10 (9,9%)	91 (90,1%)	
Familienstand	201			
Partnerschaft	151 (75,1%)	15 (9,9%)	136 (90,1%)	n. s.
Ledig	50 (24,9%)	1 (2%)	49 (98%)	
Bildungsgrad	203			
Niedriger Ausbildungsstand	84 (41,4%)	9 (10,7%)	75 (89,3%)	n. s.
Hoher Ausbildungsstand	119 (58,6%)	7 (5,9%)	112 (94,1%)	
Haushaltsgröße	202			
Großer Haushalt (≥5)	82 (40,6%)	9 (11%)	73 (89%)	n. s.
Kleiner Haushalt (≤4)	120 (59,4%)	7 (5,8%)	113 (94,2%)	
Wohnort	202			
Städtische Wohnregion	129 (63,9%)	9 (7%)	120 (93%)	n. s.
Ländliche Wohnregion	73 (36,1%)	7 (9,6%)	66 (90,4%)	

Infektionsrelevante Lebensgewohnheiten und Lebensumstände des Studienkollektivs

Der BMI in der untersuchten Studienpopulation war normalverteilt (vgl. *Abbildung 6*). Der Mittelwert fiel wie in *Tabelle 21* zu sehen ist mit 25,63% in die Kategorie der Präadipositas.

Tab. 21: Häufigkeitsverteilung vom BMI

Kennwert	Min.	Max.	SD	Mittelwert	Asymptotisch Signifikanz (2-seitig)
BMI (N=200)	13,8	42,6	4,74	25,63	0,2

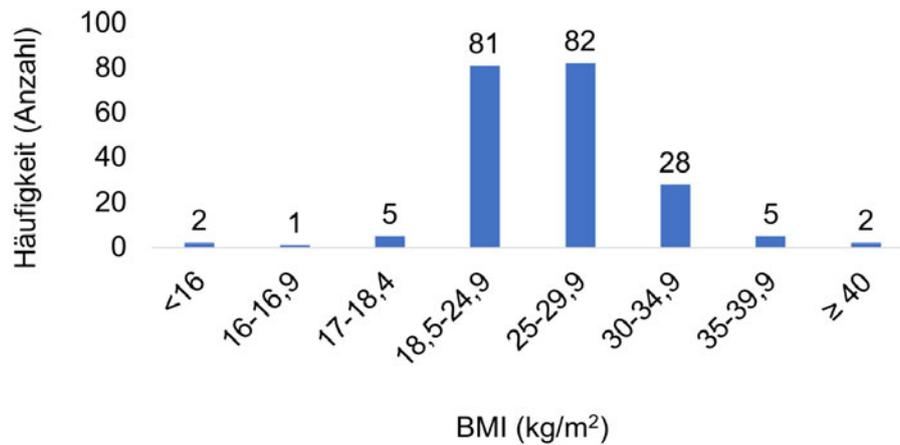


Abb. 6: BMI-Verteilung

Ein niedriger hygienischer Standard, die Nutzung von Rohwasser, regelmäßiger Fleischkonsum und Rauchen wurden als potentielle Risikofaktoren für eine *H.p.*-Infektion in dieser Arbeit untersucht. Bei Betrachtung der Antwortverteilung hinsichtlich der untersuchten Merkmale, welche die infektionsrelevanten Lebensumstände betreffen fiel auf, dass 40,2% (n=80) der Befragten keinen Zugang zu einer Toilette mit Wasserspülung hatten, 30,5% (n=61) Rohwasser – aus Fluss, See oder Brunnen – als ihre Trinkwasserquelle nutzten, die Hälfte (52%) der in dieser Studie eingeschlossenen Personen regelmäßig Fleisch konsumierte, jedoch lediglich 10 (4%) der Untersuchten laut Fragebogenauswertung regelmäßig rauchten (vgl. Tabelle 22). Die Prüfung aller untersuchten infektionsrelevanten Lebensumstände zeigte keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf den PCR- Status.

Tab. 22: Häufigkeitsverteilung infektionsrelevanter Lebensumstände des Studienkollektivs in Gegenüberstellung mit dem PCR Status

Merkmal/ Ausprägung	Gültige Anzahl (N_{gesamt} = 203)	PCR Negativ (n_{gesamt} = 16)	PCR Positiv (n_{gesamt} = 187)	p-Wert
BMI (Median in kg/m²)	200	23,9	25,8	n. s.
Trinkwasserquelle	200			
Rohwasser	61 (30,5%)	4 (6,6%)	57 (93,4%)	n. s.
Aufbereitetes Wasser	139 (69,5%)	11 (7,9%)	128 (92,1%)	
Sanitäranlage	199			
niedriger hygien. Standard	80 (40,2%)	8 (10%)	72 (90%)	n. s.
hoher hygien. Standard	119 (59,8%)	7 (5,9%)	112 (94,1%)	
Fleischkonsum	200			
Fleischkonsum (≥3x/wo.)	104 (52%)	10 (9,6%)	94 (90,4%)	n. s.
Fleischkonsum (≤3x/wo.)	96 (48%)	5 (5,2%)	91 (94,8%)	
Rauchen	203			
Ja	10 (4,9%)	0 (0%)	10 (100%)	n. s.
Nein	193 (95,1%)	16 (8,3%)	177 (91,7%)	

Infektionsbezogene Daten

Die am häufigsten beklagten dyspeptischen Symptome des befragten Studienkollektivs stellten Befindlichkeitsstörungen und Schmerzen wie bspw. Oberbauchbeschwerden (84,7%), Sodbrennen (70,3%) und Völlegefühl (69,5%) dar. Offenkundige Symptome wie gastrointestinale Blutungszeichen (26,1%), Erbrechen (22,8%) und Durchfall (18,25%) wurden hingegen von einer wesentlich kleineren Gruppe angegeben. Die Prüfung der infektionsbezogenen anamnestischen Daten auf Unabhängigkeit erbrachte für alle untersuchten Merkmale keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des PCR Status. In *Tabelle 23* werden die Verteilung der infektionsbezogenen anamnestischen Angaben in Gegenüberstellung mit dem PCR Status sowie das Ergebnis der Unabhängigkeitstestung anhand des p-Werts dargestellt.

Tab. 23: Häufigkeitsverteilung infektionsbezogener anamnestischer Daten in Gegenüberstellung mit dem PCR Status

Merkmal/ Ausprägung	Gültige Anzahl (N_{gesamt} = 203)	PCR Negativ (n_{gesamt} = 16)	PCR Positiv (n_{gesamt} = 187)	p-Wert
Oberbauchschmerzen	203			
Ja	172 (84,7%)	14 (8,1%)	158 (91,9%)	n. s.
Nein	31 (15,3%)	2 (6,4%)	29 (93,6%)	
Appetitsverlust	203			
Ja	82 (40,4%)	8 (9,8%)	74 (90,2%)	n. s.
Nein	121 (59,6%)	8 (6,6%)	113 (93,4%)	
Völlegefühl	203			
Ja	141 (69,5%)	13 (9,2%)	128 (90,8%)	n. s.
Nein	62 (30,5%)	3 (4,8%)	59 (95,2%)	
Aufstoßen	203			
Ja	98 (48,3%)	10 (10,2%)	88 (89,8%)	n. s.
Nein	105 (51,7%)	6 (5,7%)	99 (94,3%)	
Verdauungsbeschwerden	203			
Ja	69 (34,2%)	6 (8,7%)	63 (91,3%)	n. s.
Nein	134 (66%)	10 (7,5%)	124 (92,5%)	
Blähungen	203			
Ja	111(54,7%)	11 (9,9%)	100 (90,1%)	n. s.
Nein	92 (45,3%)	5 (5,4%)	87 (94,6%)	
Übelkeit	203			
Ja	78 (38,4%)	5 (6,4%)	73 (93,6%)	n. s.
Nein	125 (61,6%)	10 (8%)	115 (92%)	
Erbrechen	203			
Ja	46 (22,7%)	2 (4,3%)	44 (95,7%)	n. s.
Nein	157 (77,3%)	13 (8,3%)	144 (91,7%)	
Sodbrennen	202			
Ja	142 (70,3%)	11 (7,7%)	131 (92,3%)	n. s.
Nein	60 (29,7%)	4 (6,7%)	56 (93,3%)	
Durchfall	203			
Ja	37 (18,2%)	4 (10,8%)	33 (89,2%)	n. s.
Nein	166 (81,8%)	12 (7,2%)	154 (92,8%)	
GI-Blutungszeichen	203			
Ja	53 (26,1%)	3 (5,7%)	50 (94,3%)	n. s.
Nein	150 (73,9%)	13 (8,7%)	137 (91,3%)	

Merkmal/ Ausprägung	Gültige Anzahl (N_{gesamt} = 203)	PCR Negativ (n_{gesamt} = 16)	PCR Positiv (n_{gesamt} = 187)	p-Wert
Reg. Medikamenten- einnahme	203			
Ja	46 (22,7%)	4 (8,7%)	42 (91,3%)	n. s.
Nein	157 (77,3%)	12 (7,6%)	145 (92,4%)	
Vorh. <i>H.p.</i>- Infektion	203			
Ja	36 (17,7%)	4 (11,1%)	32 (88,9%)	n. s.
Nein	167 (82,3%)	12 (7,2%)	155 (92,8%)	
Vorh. <i>H.p.</i>-Behandlung	203			
Ja	38 (18,7%)	3 (7,9%)	35 (92,1%)	n. s.
Nein	165 (81,3%)	13 (7,9%)	152 (92,1%)	
<i>H.p.</i>- positive Angehörige	203			
Ja	5 (2,5%)	1 (20%)	4 (80%)	n. s.
Nein	198 (97,5%)	15 (7,6%)	183 (92,4%)	
Vorh. ÖGD	202			
Ja	16 (7,9%)	0 (0%)	16 (100%)	n. s.
Nein	186 (92,1%)	16 (8,6%)	170 (91,4%)	

3.2.2 Assoziation zwischen den untersuchten Merkmalen und dem Vorliegen einer *Helicobacter pylori*-Infektion

Bei keinem der untersuchten Merkmale konnte ein signifikanter Zusammenhang mit einer *H.p.*-Infektion festgestellt werden. Weder bei gewissen Lebensgewohnheiten oder -umständen, noch bei einzelnen Symptomen, einer positiven Familienanamnese oder einer eigenen Infektionsvorgeschichte zeigte sich eine Assoziation zu einer *H.p.*-Infektion: Die Werte der asymptotischen Signifikanz und der exakten Signifikanz lagen für alle Merkmale $> 0,05$ (p-Wert). Die Alternativhypothese, dass ein statistisch relevanter Zusammenhang zwischen den untersuchten Faktoren und einer *H.p.*-Infektion vorliegt, war somit zu verwerfen. Ferner schloss das Konfidenzintervall auf einem 95%igem Vertrauensbereich für alle Variablen den Wert eins mit ein. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen daher gegen einen signifikanten Einfluss der untersuchten Merkmale auf ein erhöhtes Infektionsrisiko. Eine Übersicht über die Ergebnisse aller untersuchten Merkmale gibt *Tabelle 24*.

Tab. 24: Ergebnisdarstellung der Signifikanzprüfung für das Vorliegen einer *H.p.*-Infektion anhand ausgewählter Merkmale

Merkmal (N)	Odds Ratio	95% KI	p-Wert
Alter	0,98	[0,95; 1,01]	n. s.
Weiblich	1,87	[0,65; 5,4]	n. s.
Partnerschaft	0,19	[0,02; 1,44]	n. s.
Großer Haushalt	0,50	[0,18; 1,42]	n. s.
Städtische Wohnregion	1,05	[0,55; 2,01]	n. s.
BMI	1,02	[0,92; 1,14]	n. s.
Niedriger Ausbildungsstand ¹⁶	1,72	[0,94; 3,14]	n. s.
Rohwasser	1,19	[0,50; 2,82]	n. s.
Niedriger hygien. Standard	1,38	[0,48; 3,99]	n. s.
Reg. Fleischkonsum	0,56	[0,19; 1,66]	n. s.
Rauchen*	1,95		n. s.
Oberbauchschmerzen	0,78	[0,17; 3,61]	n. s.
Appetitverlust	0,72	[0,21; 2,52]	n. s.
Völlegefühl	0,63	[0,15; 2,7]	n. s.
Aufstoßen	0,66	[0,2; 2,23]	n. s.
Verdauungsbeschwerden	0,91	[0,28; 2,97]	n. s.
Blähungen	0,81	[0,2; 1,34]	n. s.
Übelkeit	2,50	[0,63; 9,9]	n. s.
Erbrechen	1,82	[0,34; 9,79]	n. s.
Sodbrennen	0,66	[2,3; 2,75]	n. s.
Durchfall	0,83	[0,2; 3,56]	n. s.
Blutungszeichen	1,40	[0,34; 5,73]	n. s.
Reg. Medikamenteneinnahme	0,99	[0,28; 3,48]	n. s.
Vorh. <i>H.p.</i> -Infektion	0,38	[0,06; 2,29]	n. s.
Vorh. <i>H.p.</i> -Therapie	2,32	[0,31; 17,36]	n. s.
<i>H.p.</i> -positive Angehörige	0,28	[0,02; 3,66]	n. s.
Vorh. ÖGD*	3,19		n. s.

* Die Odds Ratio (OR) wurde manuell berechnet. Die Berechnung der p-Werte und des Konfidenzintervalls waren aufgrund von Separation nicht möglich.

¹⁶ Unter dem Merkmal niedriger Ausbildungsstand wurden 1. Kein Abschluss und 2. Grundschulabschluss zusammengefasst

3.3 Helicobacter pylori-Prävalenz

Die Prävalenzangaben von *H.p.*-Infektionen beziehen sich im Folgenden auf die Ergebnisse der 23S-rDNA basierten qRT-PCR, welche für diese Arbeit als diagnostischer Goldstandard definiert wurde. Die ermittelte *H.p.*-Prävalenz innerhalb des untersuchten Studienkollektives lag bei 92,2%.

3.3.1 Prävalenzbestimmung von *Helicobacter pylori*-Infektionen mittels qRT-PCR

Die Prävalenzbestimmung basiert auf der molekulargenetischen Diagnostik mittels qRT-PCR von 204 Biopsien (vgl. Abschnitt 3). Bei 188 (92,2%) Proben konnte die 23S-rDNA Genregion, die für den entsprechenden 23S-rRNA Genabschnitt codiert, nachgewiesen werden. Hingegen konnte bei 16 (7,8%) der 204 Proben in der qRT-PCR kein 23S-Gen detektiert werden, sie wurden somit als *H.p.*-negativ gewertet.

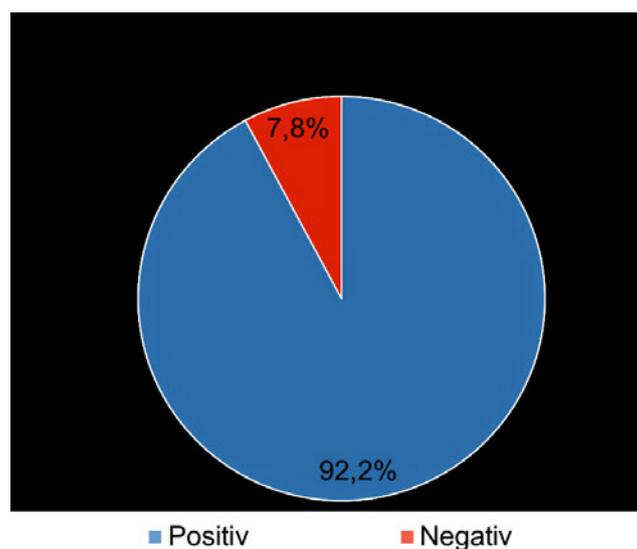


Abb. 7: PCR Ergebnisse der 23S Genregion

3.4 Ergebnisvergleich diagnostischer Schnelltestmethoden

Die erfassten Häufigkeiten von *H.p.*-Infektionen mittels *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut und RUT divergierten deutlich von den Ergebnissen der qRT-PCR (Goldstandard). Die anhand der drei Schnelltests ermittelten Infektionsraten lagen bei 38,7% für den RUT, 48,4% für den *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut und bei 56,9% für den *H.p.* Koproantigen-Schnelltest und waren damit deutlich niedriger als bei der qRT-PCR (vgl. Tabelle 25). Bei Betrachtung der Ergebnisse ist, die

verglichen mit der PCR zum Teil deutlich geringere Anzahl an eingeschlossenen Tests (N) zu beachten.

Tab. 25: Häufigkeitsverteilung der Testergebnisse

Test	Anzahl (N)	Neg. Testergebnis	Pos. Testergebnis
23S-PCR	204	16 (7,8%)	188 (92,2%)
<i>H.p.</i> Koproantigen-Schnelltest	202	86 (42,6%)	116 (56,9%)
<i>H.p.</i> Antikörper-Schnelltest aus Vollblut	157	81 (51,6%)	76 (48,4%)
RUT	188	109 (58%)	79 (38,7%)

3.4.1 Statistische Gütekriterien von *H.p.* Koproantigen -, *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut- und Urease-Schnelltest

Bei Betrachtung von Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW der einzelnen Testergebnisse fiel auf, dass nichtinfizierte Patientinnen und Patienten mit einer hohen Wahrscheinlichkeit ein damit übereinstimmendes negatives Testergebnis erhielten (Spezifität = 93,8%; 91,7%; 100%)¹⁷. Die Wahrscheinlichkeit, bei einem positiven Testergebnis richtigerweise als infiziert erkannt zu werden, war mit 99,1%; 98,6% und 100% sogar noch höher (PPW). Im Gegensatz dazu lag die Wahrscheinlichkeit, dass eine infizierte Person ein positives Testergebnis erhielt und als krank erkannt wurde, mit 61,82%, 51,7% und 45,9% wesentlich niedriger (Sensitivität). Nicht zu vernachlässigen ist, dass die Wahrscheinlichkeit, bei einem negativen Testergebnis trotzdem mit *H.p.* infiziert zu sein, bei allen drei Methoden auffallend hoch war (NPW= 17,4%, 13,5%, 14,7%). Eine Übersicht über die statistischen Ergebnisse der untersuchten diagnostischen Testverfahren bietet *Tabelle 26*.

3.4.2 Übereinstimmungsmaß diagnostischer Schnelltests mit qRT-PCR als Referenzmethode

Die statistische Auswertung der untersuchten diagnostischen Methoden zeigte laut Altman eine nicht ausreichende Übereinstimmung (Cohens $\kappa < 0,2$) der einzelnen Testverfahren mit den PCR-Ergebnissen. Zwar war die Übereinstimmung der kombinierten Testergebnisse aus *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Voll-

¹⁷ Die Ergebnisse sind wie folgt zuzuordnen: 1. *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, 2. *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut, 3. RUT.

blut und RUT höher als die der Einzelergebnisse, dennoch ist der Grad der Übereinstimmung mit $\kappa = 0,283$ laut Altman¹⁸ nur als hinreichend einzustufen (vgl. Tabelle 26).

Tab. 26: Statistische Gütekriterien der untersuchten Testverfahren

	H.p. Koproantigen-Schnelltest N = 202	H.p. Antikörper-Schnelltest aus Vollblut N = 157	RUT N = 188	Kombinierte Testergebnisse N = 174
Sensitivität	61,82%	51,7%	45,9%	77,64%
Spezifität	93,8%	91,7%	100%	84,6%
PPW	99,1%	98,6%	100%	98,43%
NPW	17,4%	13,5%	14,7%	30,6%
Cohens κ	0,185	0,119	0,126	0,283

3.5 Identifizierung von *Helicobacter pylori*-Resistenzgenen

In dieser Arbeit wurde zum einen die 23S-rDNA auf das Vorliegen von Mutationen, die Resistenzen gegenüber CL bedingen, untersucht. Zum anderen wurde analog dazu das *gyrA*-Gen auf Mutationen, die eine FQ-Resistenz hervorrufen, analysiert. Für beide Genregionen konnten innerhalb des Probenkollektivs verschiedene Punktmutationen identifiziert werden.

3.5.1 Clarithromycinresistenz

In der Literatur beschriebene Resistenzmutationen gegenüber CL zeigten sich bei 54 (28,7%) der 188 *H.p.*-positiven Proben. Bei 31 (57,4%) der 54 mutierten Proben fand sich in der Sequenzanalyse eine homogene Population mit einfacher Punktmutation. Charakteristika von Mischinfektionen waren hingegen bei insgesamt 23 der untersuchten Proben zu sehen: 21 (38,9%) Biopsien zeigten dabei einen Polymorphismus aus Wildtypsequenz und Einzelmutation. Bei zwei weiteren Proben lagen ebenfalls heterogene *H.p.*-Populationen vor, jedoch waren bei beiden neben der Wildtypsequenz zusätzlich zwei Punktmutationen zu finden. Die Punktmutationen betrafen jeweils zwei benachbarte Basen.

¹⁸ Kategorisierung nach Altman: $\kappa < 0,20$ = nicht ausreichend, $\kappa 0,21-0,4$ = hinreichend, $\kappa 0,41-0,6$ = moderat, $\kappa 0,61-0,8$ = gut, $\kappa 0,81-1,0$ = sehr gut.

Mutationen in der 23S-rDNA

Folgende 23S-rDNA Mutationen waren in der Probenauswahl vertreten: A2143G, A2142G, A2142C, A2143C. Alle diese Mutationen sind in der Literatur bereits mehrfach beschrieben worden und als Resistenzmutationen bekannt (50-52).

In *Abbildung 8* ist ein Ausschnitt aus der 23S-rDNA Region zu sehen, in der die mutierten rDNA-Sequenzen der entsprechenden 23S-rDNA Wildtypsequenz gegenübergestellt sind.

Position	2141	2142	2143	2144															
		↓	↓	↓	↓														
Wildtyp	C	A	A	G	A	C	G	G	A	A	A	G	A	C	C	C	C	G	T
A2142C	C	A	A	G	A	C	G	G	C	A	A	G	A	C	C	C	C	G	T
A2142G	C	A	A	G	A	C	G	G	G	A	A	G	A	C	C	C	C	G	T
A2143C	C	A	A	G	A	C	G	G	A	C	A	G	A	C	C	C	C	G	T
A2143G	C	A	A	G	A	C	G	G	A	G	A	G	A	C	C	C	C	G	T

Abb. 8: Ausschnitt aus der 23S-rDNA

Eine Übersicht über die Verteilung der in der 23S-rDNA Region detektierten resistenzcodierenden CL-Mutationen findet sich in *Tabelle 27*. Unter heterogener *H.p.*-Population wird in dieser Arbeit das simultane Vorliegen von resistenzcodierenden Mutationen und Wildtypsequenz verstanden.

Tab. 27: Detektierte Mutationen innerhalb der 23S-rDNA

Homogene <i>H.p.</i>-Population	(N=31)	Heterogene <i>H.p.</i>-Population	(N=23)
A2142C	1	A2142G + WT	4
A2142G	16	A2143G + WT	17
A2143C	1	A2142G + A2143G + WT	2
A2143G	13		

Bei Betrachtung der Mutationshäufigkeiten fiel vor allem der große Unterschied in der Verteilung der einzelnen Mutationen auf: Die Mutationen A2142G und A2143G waren mit

22- und 32-mal weitaus häufiger vertreten als die beiden Mutationen A2142C und A2143C, die beide jeweils nur einmal vorhanden waren.

Die *Abbildung 9* zeigt exemplarisch vier Ausschnitte (A-D) aus Chromatogrammen der 23S-rDNA-Sequenzierung.

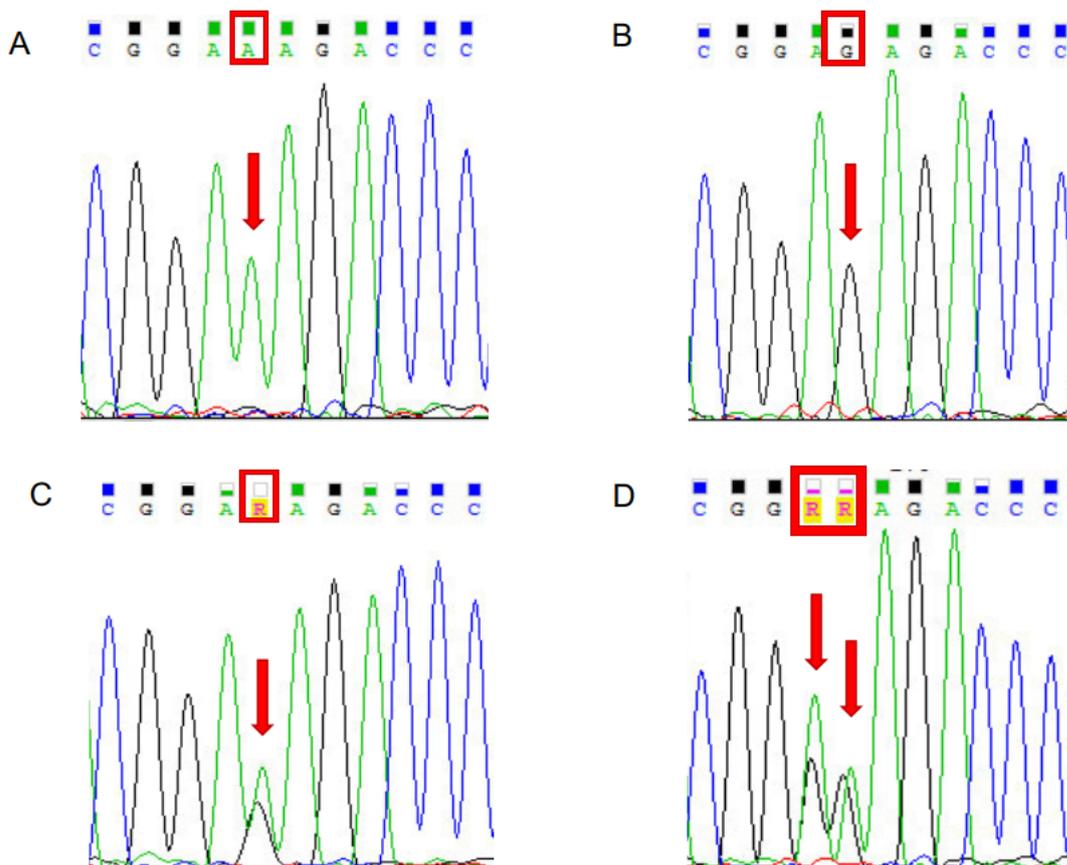


Abb. 9: DNA-Chromatogramme
 Chromatogramm der Wildtypsequenz (A), Einzelmutation A2143G (B), Wildtypsequenz und Einzelmutation A2142G (C), Wildtypsequenz und Doppelmutation A2143G+A2142G (D)

In *Abbildungen 9A* ist ein DNA-Chromatogramm der Wildtyp-Sequenz zu sehen. Das DNA-Chromatogramm in *Abbildung 9B* zeigt ein Beispiel für eine identifizierte Punktmutation, die zu einer CL-Resistenz führt. In 23 DNA-Chromatogrammen dieser Studie war neben der resistenzvermittelnden Punktmutation an gleicher Position auch die Base für den Wildtyp nachweisbar (*vgl. Abbildung 9C*). Ein solches Ereignis wurde als simultanes Vorliegen zweier verschiedener *H.p.*-Populationen (Wildtyp und Mutant) in der jeweiligen Probe interpretiert. Zwei der 23 DNA-Chromatogramme wiesen zudem eine zweite, benachbarte Punktmutation mit dem gleichen Phänomen auf (*vgl. Abbildung 9D*).

3.5.2 Fluorchinolonresistenz

Bei 134 der 188, also bei 70,7% der *H.p.*-positiven Proben konnte zusätzlich in der qRT-PCR die Sequenz der *gyrA*-Genregion detektiert werden. Alle *gyrA*-Gen positiven Proben wurden im Anschluss sequenziert und das Amplicon auf Mutationen hin untersucht. Drei der 134 *gyrA* positiven PCR-Produkte waren nicht sequenzierbar, sodass keine Aussage über den Mutationsstatus getroffen werden kann.

Mutationen im *gyrA*-Gen

Bekannte *gyrA*-Gen vermittelte Mutationen (71), die zu einer FQ-Resistenz führen, konnten in insgesamt 77 der 131 (58,8%) sequenzierten Proben gefunden werden. Alle 77 Mutationen lagen in der QRDR-Region (72). Bei 68 der 77 mutierten Proben handelte es sich um bekannte resistenzcodierende Einzelmutationen, sechs davon wiesen einen Polymorphismus aus Wildtyp-Allel und Einzelmutation auf. Drei der 77 untersuchten Sequenzen zeigten eine Doppelmutation. Bei zwei dieser Proben lag zusätzlich das Wildtyp-Allel vor. Bemerkenswert ist, dass sich in 16 der 131 Biopsien (11,9 %) eine bislang unbeschriebene Mutation, A92T, fand. Es ist allerdings unklar, ob der Austausch von Alanin (Ala) zu Threonin (Thr) an Position 92 einen Einfluss auf die Resistenzentwicklung gegenüber FQ hat oder ob sie einen neutralen Polymorphismus ohne Auswirkungen auf die Gyraseaktivität darstellt.

Eine Übersicht über die für diese Arbeit relevanten Mutationen im *gyrA*-Gen gibt *Tabelle 28*.

Tab. 28: Identifizierte Punktmutationen in der QRDR-Region des *gyrA*-Gens

Mutation	AS- Position	WT- Basentriplett	Mutations- Basentriplett	AS-Austausch
N87I	87	AAC	ATC	Asn → Ile
N87Y			TAT	Tyr
N87K			AAA /AAG	Lys
D91N	91	GAT	GGT	Asp → Gly
D91G			AAT	Asn
D91Y			TAT	Tyr
A92T	92	GCG	ACG	Ala → Thr

Zur Veranschaulichung der in dieser Arbeit nachgewiesenen Mutationen ist hier, analog zum Mutationsschema für CL, ein Ausschnitt aus der *gyrA*-Gensequenz zu sehen. *Abbildung 10* stellt die Genveränderungen von Mutanten der Gensequenz des Wildtyps gegenüber.

Position	86	87	88	89	90	91	92
Wildtyp	GAT	AAC	GCG	GTT	TAT	GAT	GCG
N87I	GAT	ATC	GCG	GTT	TAT	GAT	GCG
N87K – 1.	GAT	AAA	GCG	GTT	TAT	GAT	GCG
N87K – 2.	GAT	AAG	GCG	GTT	TAT	GAT	GCG
N87Y	GAT	TAT	GCG	GTT	TAT	GAT	GCG
D91N	GAT	AAC	GCG	GTT	TAT	GGT	GCG
D91G	GAT	AAC	GCG	GTT	TAT	AAT	GCG
D91Y	GAT	AAC	GCG	GTT	TAT	TAT	GCG
A92T	GAT	AAC	GCG	GTT	TAT	GAT	ACG

Abb. 10: Ausschnitt aus der gyrA-rRNA Genregion

Es konnten insgesamt sechs unterschiedliche Resistenzmutationen gefunden werden. Eine detaillierte Auflistung aller gefundenen Mutationen im *gyrA*-Gen inklusive der jeweiligen Auftretenshäufigkeit findet sich in *Tabelle 29*.

Tab. 29: Detektierte Mutationen innerhalb des gyrA-Gens

Homogene <i>H.p.</i>-Population (N=70)		Heterogene <i>H.p.</i>-Population (N=16)	
N87I	20	N87I + WT	1
N87K	7	N87K + WT	2
N87Y	0	N87Y + D91N	1
D91G	8	N87K + D91Y + WT	1
D91N	15	N87K + D91N + WT	1
D91Y	11	D91N + WT	1
A92T	9	D91Y + WT	2
		A92T + N87K	4
		A92T + D91N	3

3.5.3 Resistenzlage des untersuchten Studienkollektivs

Insgesamt konnten bei 54,8% (103/188) der untersuchten Proben resistenzcodierende Mutationen identifiziert werden. 27,2% (28/103) von ihnen wiesen sowohl Resistenzmutationen gegenüber CL als auch gegenüber FQ auf. Bei 25,2% (26/103) fanden sich ausschließlich resistenzcodierende Mutationen gegenüber CL und bei 47,6% (49/103) einzig Mutationen gegenüber FQ. Dementsprechend traten bei 14,9% (28/188) aller *H.p.*-positiven Proben eine Kombination aus CL- und FQ-Resistenzmutationen auf. Eine Übersicht über die ermittelten Ergebnisse findet sich in *Tabelle 30*.

Tab. 30: Übersicht über die Verteilung von *Helicobacter pylori*-Resistenzgenen und resistenzcodierenden Mutationen

Nachweis 23S-rDNA	Nachweis <i>gyrA</i> -Genregion	Nachgewiesene Resistenzmutationen			
		gesamt	CL	FQ	CL plus FQ
188/204 (92,2%)	134/188 (70,7%)	103/188 (54,8%)	54/188 (28,7%)	77/131 (58,8%)	28/103 (27,2%)
<i>davon</i> <i>sequenzierbar</i>	<i>davon</i> <i>sequenzierbar</i>				<i>Anteil an H.p.-</i> <i>positiven Proben</i>
188/188 (100%)	131/134 (98,5%)				28/188 (14,9%)

4 Diskussion

Die vorliegende Querschnittstudie war darauf angelegt, unterschiedlichen Forschungsfragen hinsichtlich Prävalenz, Diagnostik und Therapie von *H.p.*-Infektionen nachzugehen. Maßgebliche Erkenntnisziele waren, die Prävention von *H.p.*-Infektionen zu verbessern, Fortschritte in der diagnostischen Sicherheit zu erzielen und die Therapieerfolgsraten in Tansania zukünftig zu steigern.

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Arbeit stützen sich auf die Befragung und diagnostische Untersuchung von 204 tansanischen Patientinnen und Patienten mit gastrointestinalen Beschwerden. Die Prävalenzbestimmung des untersuchten Studienkollektivs erfolgte molekulargenetisch mittels qRT-PCR mit dem Ergebnis einer *H.p.*-Prävalenz von 92,2%. In der Untersuchung von potenziellen Einflussfaktoren auf eine *H.p.*-Infektion konnte bei keinem Merkmal ein statistisch signifikanter Zusammenhang zu einer *H.p.*-Infektion festgestellt werden. Die identifizierten Prädiktoren vorheriger Studien (12, 18, 20) konnten durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht bestätigt werden.

Ein kostengünstiger Schnelltest, der eine hohe diagnostische Sicherheit bietet und somit für die Etablierung in Tansania geeignet wäre, konnte im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls nicht identifiziert werden. Die Testgenauigkeit aller drei getesteten Verfahren war, entsprechend des ermittelten Cohens κ von $<0,2$, in dieser Untersuchung stark eingeschränkt. Die anhand der Schnelltests detektierten Prävalenzraten lagen mit 56,9%, 48,4% und 38,7% deutlich niedriger als bei der qRT-PCR (92,2%). Die errechneten Werte für Sensitivität und NPW waren durchweg gering. Im Gegensatz dazu zeigte die statistische Analyse bei einer insgesamt hohen *H.p.*-Prävalenz für alle drei Tests einen hohen Wert für Spezifität und PPW.

Die im weiteren Verlauf durchgeführte molekulargenetische Analyse der Biopsien mit der Frage nach CL- bzw. FQ-Resistenzen ergab folgende Ergebnisse: Bei der Untersuchung des 23S-Gens zeigten 28,7% der Proben Resistenzmutationen, von denen bekannt ist, dass sie CL-Resistenzen bedingen. 57,4% dieser Stämme wiesen eine homogene *H.p.*-Population mit einer einzigen Punktmutation auf. In der Sequenzanalyse der restlichen 42,6% lagen gemischte *H.p.* Populationen vor. Die für eine FQ-Resistenz wichtige *gyrA*-Genregion konnte bei 70,7% der positiven Proben amplifiziert werden. Bei 58,8% davon

fanden sich resistenzcodierende Mutationen innerhalb der Region von Aminosäure (AS) 87 und 91 (QRDR), von der bekannt ist, dass sie wichtig für eine FQ-Resistenz ist. Der Anteil an homogenen Populationen mit Einzelmutationen überwog im *gyrA*-Gen deutlich (88,3%)¹⁹. Lediglich neun Biopsien (11,7%) zeigten eine heterogene Population aus bekannten Mutationen und Wildtypsequenz. Bemerkenswert ist außerdem, dass 16 Proben (11,9%) an Position 92 zusätzlich einen Basenaustausch von Alanin zu Threonin aufwiesen.

4.2 Diskussion von Studiendesign und Methoden

Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine Querschnittstudie, die im Zeitraum August 2014 bis Oktober 2015 Patientinnen und Patienten mit epigastrischen Beschwerden in Tansania auf das Vorliegen einer *H.p.*-Infektion hin untersucht hat. Die Studienpopulation umfasst Personen, die sich in diesem Zeitraum aus klinischer Indikation einer ÖGD unterzogen haben. Bei den Teilnehmenden wurde eine Fragebogenerhebung zu möglichen Einflussfaktoren durchgeführt. Die Befragung diente dazu, vorhandene Hypothesen über beeinflussende Risikofaktoren zu überprüfen und neue zu generieren. Die Aussagekraft der Fragebogenerhebung wird dadurch eingeschränkt, dass die Antworten größtenteils²⁰ auf der Selbstauskunft der Patientinnen und Patienten basieren und die Angaben zu Symptomen eine Momentaufnahme des subjektiven Empfindens und Wahrnehmens widerspiegeln. Eine Überprüfung der Angaben auf Richtigkeit²¹ ist nicht erfolgt. Da es sich bei dieser Arbeit um eine Querschnittstudie handelt, sind alle Ergebnisse lediglich als lokale Bestandsaufnahme des untersuchten Zeitpunkts zu betrachten, die nicht auf die nationale Situation schließen lassen. Eine Aussage über den zeitlichen Verlauf oder den Kausalzusammenhang einer Infektion als Zielvariable und den untersuchten Merkmalen als unabhängige Variablen ist daher kaum möglich. Um einen zeitlichen Kausalzusammenhang zwischen Risikofaktoren und einer Infektion zu messen, wäre eine prospektive Längsschnittstudie nötig. Für die Errechnung der Stichprobengröße wurde die ermittelte Prävalenz von einer Studie aus dem Jahr 2004 mit dem Studienzeitraum von 1991 bis 2002 herangezogen (11). Fraglich ist, ob die Prävalenzangaben bei einer zeitlichen Latenz der Studien von über einem Jahrzehnt für die Fallzahlberechnung dieser Arbeit angemessen waren. Aufgrund einer Verbesserung des Hygienestan-

¹⁹ Die 88,3% beziehen sich auf die bekannten Einzelm Mutationen: N87I, N87K, N87Y, D91G, D91N und D91Y. Die Proben, die einen Basenaustausch von Alanin (A) zu Threonin (T) an Position 92 aufwiesen wurden in diese Berechnung nicht einbezogen.

²⁰ Mit Ausnahme der Erhebung von Größe und Gewicht.

²¹ Hinsichtlich Stuhlkonsistenz, GI-Befundungen, Erbrechen oder durch Befragung von Angehörigen.

dards in vielen Regionen Tansanias wäre ein Rückgang an *H.p.*-Infektionen seit 2004 zu vermuten gewesen. Angesichts der Tatsachen, dass von einer hohen Rate an chronischen *H.p.*-Infektionen mit in der Kindheit liegendem Infektionszeitpunkt und oligo- oder asymptomatischen Verläufen auszugehen ist und aktuellere Studien ähnlich hohe Prävalenzraten wie 2004 für die Region in und um Tansania fanden, erscheint die berechnete Stichprobengröße trotz zeitlicher Latenz vertretbar (14, 16, 73, 74).

Die Auswahl des *Studienkollektivs* wurde anhand mehrerer Kriterien getroffen: Aus rechtlichen und ethischen Gründen beschränkte sich die Studie auf volljährige Patientinnen und Patienten. Außerdem wurden nur Personen mit einer infektionstypischen Symptomatik eingeschlossen, wie es auch in der Beschreibung des SureScreen Antikörper-Test gefordert ist. Aufgrund des Risikos für falsch-negative Testergebnisse bei PPI oder Antibiotikaeinnahme vier Wochen vor Intervention wurden Patientinnen und Patienten mit zutreffender Anamnese von der Studie ausgeschlossen. Um das Blutungsrisiko gering zu halten, wurde außerdem von allen Probanden ein Quick über 60 bzw. INR unter 1,3 gefordert. Die Teilnahme war darüber hinaus unabhängig von Geschlecht, Herkunft und sozioökonomischen Status. Allerdings mussten die Kosten für die Gastroskopie von den Teilnehmenden selbst getragen werden, wodurch eine Vorselektion des Studienkollektivs hinsichtlich des sozioökonomischen Status zu vermuten ist. Von einer Unterrepräsentation der finanziell schlechter gestellten Bevölkerungsschicht ist daher auszugehen. Diese Annahme wird auch durch die Antwortenverteilung bei gewissen Merkmalen unterstützt, von denen ein enger Zusammenhang mit dem sozioökonomischen Status bekannt ist²². Während des Studienzeitraums wurden im BMC unerwarteter Weise die von Patientinnen und Patienten selbst zu tragenden Kosten einer Gastroskopie um mehr als ein Drittel angehoben²³. Als Folge ließ sich ein deutlicher Rückgang an Studienteilnehmenden verzeichnen. Zusätzlich kam es zu einem unvorhergesehenen Ausfall von ärztlichem Personal in der endoskopischen Abteilung. Um trotzdem die errechnete Stichprobenanzahl zu erreichen, musste die Erhebungsdauer daher von drei auf 14 Monate ausgeweitet werden²⁴. Das untersuchte Studienkollektiv war hinsichtlich der Geschlechterverteilung und des BMIs repräsentativ, das Alter hingegen bildet keine Normalverteilung der Gesellschaft ab. Die untersuchten Personen waren im Durchschnitt jünger als zu erwarten gewesen wäre (vgl. *Abschnitt 3.2.1*).

²² Bspw. Ausbildungsstand, Sanitätsversorgung und Wasserqualität.

²³ Von 65.000 auf 100.000 Tansanische Schilling.

²⁴ Angedacht war ein Zeitraum von drei Monaten (August – Oktober 2014).

Die *Fragebogenkonzeption* basierte auf der Adaption von in vergleichbaren Studien beschriebenen relevanten Aspekten hinsichtlich einer *H.p.*-Infektion. Anzumerken ist, dass es im Voraus der Fragebogenerhebung weder eine Testphase gab, noch eine Reliabilitätsbestimmung oder Validitätsprüfung stattgefunden haben. Auch das Gütekriterium der Objektivität war hinsichtlich der Fragebogendurchführung nur eingeschränkt gegeben, da die Fragebögen den Teilnehmenden nicht in ihrer Muttersprache Kiswahili, sondern auf Englisch vorgelegt wurden. Die einzelnen Fragen wurden von unterschiedlichen Mitarbeitenden mündlich ohne standardisierte Formulierungen von Englisch auf Kiswahili übersetzt und entsprechend den Antworten der Testpersonen ausgefüllt. Kritisch zu bewerten ist dabei, dass keine einheitlichen Übersetzungen für die englischen Formulierungen verwendet wurden. Es ist demnach davon auszugehen, dass sich die Wortwahl der Befragenden unterschied. Eine unbewusste Einflussnahme der Befragenden auf die gegebenen Antworten der Teilnehmenden kann daher nicht ausgeschlossen werden. Die genannten Gründe zeigen, dass bei der Fragebogenerhebung keine standardisierten Bedingungen gegeben waren. Zur Vermeidung einer herabgesetzten Objektivität ist ein selbstauszufüllender Fragebogen auf Kiswahili für kommende Studien unbedingt zu empfehlen. Zu beachten ist auch, dass der sozioökonomische Status²⁵ in der vorliegenden Arbeit als unabhängige Variable untersucht worden ist. Ein Einfluss auf die Prävalenz von *H.p.*-Infektionen würde jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit nach nicht durch den sozioökonomischen Status selbst, sondern vielmehr durch die dadurch bedingten Lebensumstände²⁶ verursacht. Bei der Konzeption und statistischen Auswertung zukünftiger Fragebögen ist daher unbedingt auf die gegenseitige Abhängigkeit bzw. Einflussnahme der untersuchten Merkmale zu achten.

Für die Auswahl der *Testmethoden* waren die vier Prinzipien Verfügbarkeit, Erschwinglichkeit, Anwendbarkeit und Vereinbarkeit mit lokalen Gegebenheiten handlungsleitend (vgl. *Abschnitt 2.2.2*). Bei der Interpretation der PCR-Ergebnisse ist zu beachten, dass ein positives PCR-Ergebnis das Vorliegen einer floriden bakteriellen Infektion nicht beweist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die PCR auch DNA von nicht mehr vermehrungsfähigen Erregern erfasst. Ähnlich verhält es sich bei dem *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut, der sowohl bei aktiver Infektion als auch bei reiner *H.p.*-Kolonisation oder vergangener Infektion ein positives Ergebnis zeigen kann. Für eine Beurteilung der Krankheitsaktivität und des Schweregrads ist daher die Durchführung einer ÖGD unbe-

²⁵ Der sozioökonomische Status wurde in der vorliegenden Studie anhand der Merkmale: 1. Wohnort und 2. Ausbildungsstand untersucht.

²⁶ In dieser Arbeit wurden die Lebensumstände anhand der Merkmale: 1. Sanitäranlage und 2. Trinkwasserquelle und die Lebensgewohnheiten anhand der Merkmale: 1. Fleischkonsum und 2. Rauchen untersucht.

dingt zu empfehlen. In vielen ressourcenschwachen Ländern ist der Zugang zu endoskopischen Untersuchungen für die Allgemeinbevölkerung jedoch begrenzt. Aus diesem Grund konzentrierte sich diese Arbeit neben der Untersuchung des RUTs insbesondere auf Testverfahren, für die keine ÖGD notwendig ist.

4.3 Interpretation der wichtigsten Ergebnisse und Einordnung in den Stand der aktuellen Forschung

4.3.1 Prävalenz von *Helicobacter pylori* in Tansania

Die Prävalenz von *H.p.*-Infektionen weist weltweit große Unterschiede auf. Bekannt ist, dass sich in Ländern mit eingeschränkten Ressourcen, verglichen mit Industrienationen, im Durchschnitt deutlich höhere Prävalenzraten verzeichnen lassen (8). Jedoch variieren die Studienergebnisse nicht nur innerhalb der Kontinente, sondern auch innerhalb einzelner Länder. Dies gilt sowohl für den afrikanischen Kontinent, als auch für einzelne afrikanische Länder (8). Die Prävalenzergebnisse dieser Studie von 92,2% unterstützen die Annahme, dass der afrikanische Kontinent im weltweiten Vergleich die höchsten *H.p.*-Prävalenzraten aufweist (8). Auch die Ergebnisse von Mbulaiteye et al. (2006) sprechen mit einer Prävalenzrate von >90 % für diese Annahme (75). Die von Mbulaiteye et al. ermittelte Prävalenz basiert allerdings nicht wie die vorliegende Studie, auf molekulargenetischen Testergebnissen, sondern auf denen von *H.p.*-Antikörpertests. Darüber hinaus unterscheiden sich die beiden Arbeiten hinsichtlich des Settings und des untersuchten Studienkollektivs. Anders als in der vorliegenden Arbeit zählten epigastrische Beschwerden bei Mbulaiteye nicht zu den Einschlusskriterien. Außerdem wurde die Untersuchung in einer ländlichen Region im Norden Tansanias und nicht in einem städtischen Krankenhaus durchgeführt. Die Unterschiede hinsichtlich des Studienkollektivs hätten vermuten lassen, dass die von Mbulaiteye festgestellte Prävalenz niedriger ausfällt als in dieser Studie. Denkbar ist, dass dieser Unterschied durch vermutete höhere Infektionsraten in ländlichen Gebieten und durch den zeitlichen Abstand zu dieser Arbeit wieder ausgeglichen wird (s. u.). Eine weitere Studie aus Nordtansania, die Patientinnen und Patienten mit dyspeptischen Beschwerden untersuchte, fand mittels RUT eine deutlich geringere *H.p.*-Prävalenz von 65% (16). Der große Unterschied zu der in dieser Studie gefundenen Prävalenz lässt sich möglicherweise durch die unterschiedlichen Testverfahren erklären (RUT vs. qRT-PCR). Vergleicht man die mittels RUT detektierten Infektionsraten dieser Arbeit mit denen von Ayana et al., wird deutlich, dass auch hier

große Diskrepanzen bestehen (38,7% vs. 65%). Geht man davon aus, dass sich die Tendenz hinsichtlich der Ergebnisunterschiede zwischen den RUT- und qRT-PCR-Ergebnissen in der vorliegenden Arbeit auch in der Untersuchung von Ayana et al. niederschlägt, könnte dies darauf hinweisen, dass die tatsächliche Infektionsrate in dessen Studie ebenfalls höher liegt als durch den RUT erfasst. Bei der Betrachtung von Studien aus tansanischen Nachbarländern fällt auf, dass die Prävalenzraten von *H.p.*-Infektionen auch in diesen Ländern überwiegend die 50%-Marke überschreiten (14, 15, 73). Eine Ausnahme bildet dabei die 2015 publizierte Studie von Oling et al. aus Uganda, die bei Personen mit dyspeptischen Beschwerden eine *H.p.*-Prävalenz von nur 36% fand. In jener Studie wurden die *H.p.*-Infektionen mittels Gastroskopie und histologischer Untersuchung diagnostiziert. Ein Erklärungsansatz für die große Diskrepanz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist daher, dass sich die ermittelten Prävalenzangaben ausschließlich auf aktive *H.p.*-Infektionen beziehen²⁷ und latente Infektionen nicht miteinbezogen wurden (74). Außerdem stellt Oling selbst zur Diskussion, dass die Gesamtprävalenz in der Bevölkerung wahrscheinlich höher liege als von ihm ermittelt, da viele der Studienteilnehmenden vor der Untersuchung eine empirische Antibiotikatherapie erhielten, die zu falsch negativen Ergebnissen geführt haben kann (74). In der Literaturanalyse von Asombang et al. (2012) werden Studienergebnisse zu *H.p.*-Prävalenzen für mehrere tansanische Nachbarstaaten aufgeführt. Die Angaben reichen von 55% für Kenia, 81% für Sambia und 87% für Uganda (73). Eine weite Verbreitung von *H.p.*-Infektionen konnten 2014 auch für Ruanda (75,3%)²⁸ und 2013 für Äthiopien (65,7%)²⁹ festgestellt werden (14, 15). Auffällig ist, dass die tansanischen Nachbarländer zwar ebenfalls hohe Prävalenzraten aufweisen, jedoch in keinem Land die *H.p.*-Durchseuchungsrate so hoch zu sein scheint wie in Tansania. Ursächlich für die zum Teil großen Differenzen zwischen den gefundenen Prävalenzraten könnte die Infektionsuntersuchung durch verschiedene Testverfahren sein. Wie in *Abschnitt 1.6* dargestellt, unterscheidet sich die diagnostische Aussagekraft der unterschiedlichen Testverfahren. Zu beachten ist daher, dass die detektierten Infektionsraten abhängig von den jeweiligen Sensitivitäts- und Spezifitätswerten der Testverfahren sind. Verfahrensbedingt werden möglicherweise nicht alle Infektionen richtig erkannt, was zu falsch niedrigen Prävalenzraten führen kann. Bei der Betrachtung zweier Arbeiten aus Äthiopien wird deutlich, dass die ermittelten Prävalenzraten mit einer Differenz von 24,1% große Diskrepanzen aufweisen. Workineh und Andargie stellten 2016 eine wesentlich niedrigere Prävalenz für das Land fest (41,6%) als

²⁷ Mit dem morphologischen Bodenbakteriengastris.

²⁸ Prävalenzangaben basieren auf den Ergebnissen des RUTs.

²⁹ Prävalenzangaben basieren auf den Ergebnissen eines *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vobut.

Walker et al. drei Jahre zuvor (65,7%) (15, 76). Dieses Beispiel zeigt, dass der zeitliche Faktor einen entscheidenden Einfluss auf die Prävalenzentwicklung haben kann und bei der Ergebnisinterpretation unbedingt beachtet werden sollte. In vielen der genannten Länder, so auch in Äthiopien, kam es in den letzten Jahren zu einer Verbesserung des Hygienestandards, der Gesundheitsversorgung und der sozioökonomischen Gesamtsituation. Der zeitliche Abstand von drei Jahren zwischen den beiden Untersuchungen könnte durch eine Verbesserung der Lebensumstände in Äthiopien zu einer Infektionsabnahme geführt haben (76). Den Faktor Zeit als alleinige Erklärung für die Ergebnisunterschiede dieser und den o. g. Studien heranzuziehen, scheint allerdings wenig plausibel, da die Spanne zwischen den Studienzeitpunkten gering ist. Wahrscheinlicher ist, dass die Prävalenzdifferenzen neben tatsächlichen Prävalenzunterschieden auch aufgrund uneinheitlicher Einschlusskriterien der Studienkollektive verursacht wurden. Bei dem Studienkollektiv dieser Studie handelt es sich, wie erwähnt, um eine sehr selektive Stichprobenauswahl an Teilnehmenden: Eingeschlossen wurden ausschließlich Personen mit epigastrischen Beschwerden, die sich in der endoskopischen Abteilung vorstellten. Aufgrund der dargestellten Präselektion ist die vorliegende Arbeit nicht als repräsentative Prävalenzstudie der tansanischen Bevölkerung zu sehen. Die ermittelte Prävalenzrate spiegelt stattdessen die Häufigkeit von *H.p.*-Infektionen bei symptomatischen Personen wider. Ein Vergleich mit Studien, die sich auf die Gesamtbevölkerung beziehen und auch asymptomatische Personen einschließen, ist daher nicht möglich. Die Vor-testwahrscheinlichkeit aller eingeschlossenen Personen liegt für diese Arbeit aufgrund der infektionstypischen Symptome deutlich höher als in der Gesamtbevölkerung. Dies lässt vermuten, dass die tatsächliche Prävalenz der tansanischen Allgemeinbevölkerung geringer ist als bei dem untersuchten Studienkollektiv.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei Patientinnen und Patienten mit epigastrischen Beschwerden in Tansania eine *H.p.*-Infektion weit verbreitet ist. Eine allgemeingültige Aussage über die Prävalenz von *H.p.*-Infektionen in Tansania kann aus den genannten Gründen mit dieser Arbeit jedoch nicht getroffen werden.

4.3.2 Begünstigende Infektionsfaktoren

Ein zentraler Aspekt dieser Arbeit war die Überprüfung von in der Literatur beschriebenen Risikofaktoren für eine *H.p.*-Infektion. Bei der Literaturobwertung fällt auf, dass die Datenlage hinsichtlich assoziierter Risikofaktoren uneinheitlich ist. Daher erschien eine erneute Analyse in dieser Arbeit angemessen. Anders als vermutet, konnten allerdings

keine Risikofaktoren identifiziert werden, die einen signifikanten Zusammenhang zu *H.p.*-Infektionen zeigen. Eine positive Assoziation der Faktoren niedriger Bildungsstand, geringes Einkommen und schlechter Hygienestandard konnte, anders als in der vorliegenden Arbeit, übereinstimmend in mehreren Studien festgestellt werden (12, 19, 77). Als Erklärungsansatz für die Ergebnisabweichung der vorliegenden Studienergebnisse sind die Einschränkungen bei der Fragebogendurchführung (vgl. Abschnitt 4.1) zu sehen, die eine Verzerrung der Antworten bedingt haben können. Zum anderen ist zu bedenken, dass es sich bei den untersuchten Personen um eine selektive Gruppe handelt, die mit 63,9% größtenteils in der Stadt lebt. Der Hygienestandard ist dort i. d. R. höher als in ländlichen Regionen und auch Sanitäranlagen sind in städtischen Regionen oft besser ausgebaut. Beim Bildungsstand gaben über die Hälfte (58,6%) der Befragten an, einen Sekundarschulabschluss oder sogar einen Universitätsabschluss zu haben. Erklären lässt sich dies vermutlich durch das vergleichsweise junge Alter der Teilnehmenden, die eine bessere Bildung erfahren haben als die älteren Generationen. Ein weiterer Erklärungsansatz ist der vermutlich höhere sozioökonomische Status des untersuchten Studienkollektivs (s. o.), der i. d. R. mit einem höheren Bildungsstand verbunden ist. An diesen Beispielen wird deutlich, dass die Merkmale der Testpersonen in dieser Studie nicht repräsentativ verteilt sind. Möglich ist, dass die ungleiche Verteilung der Merkmale ursächlich für die fehlende Identifikation von Risikofaktoren ist. Die von Mhaskar et al. beschriebene Assoziation zwischen regelmäßigem Fleischkonsum und einer *H.p.*-Infektion bestätigte sich in dieser Arbeit ebenfalls nicht (19). Auch hinsichtlich des Einflusses von Alter, Geschlecht und Rauchen sind sich die Autoren anderer Studien uneinig. Mhaskar et al. konnte in seiner Studie eine signifikant erhöhte Infektionswahrscheinlichkeit bei Rauchern feststellen, wohingegen sich bei der Arbeit von Zhu et al. keine Assoziation zum Rauchen zeigte (19, 20). In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen *H.p.*-Infektionen und dem Rauchverhalten festgestellt. Allerdings gaben nur 4,9% der Befragten an, Raucher zu sein. Der sehr geringe Raucheranteil im untersuchten Kollektiv lässt vermuten, dass eine Antwortverzerrung aufgrund der sozialen Erwünschtheit bei dieser Frage vorliegt.

Die Untersuchung des geschlechtsbezogenen Einflusses brachte Mbulaiteye et al., Miranda et al. und Mhaskar et al. alle ausnahmslos zu dem Schluss, dass sich das Geschlecht nicht auf das Infektionsrisiko auswirkt (18, 19, 78). Auch in dieser Studie konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich des Infektionsrisikos zwischen Frauen und Männern festgestellt werden. Hingegen stellten Lim et al. und Zhu et al. in ihren Arbeiten beide einen signifikanten Zusammenhang zum Geschlecht fest. Jedoch waren sie sich

uneinig darüber, ob Männer (77) oder Frauen (20) ein erhöhtes Risiko aufweisen (77). Die Uneinheitlichkeit bei den Ergebnissen wird auch in der von Ozbey et Hanafiah veröffentlichten Übersichtsarbeit zu *H.p.*-assoziierten Risikofaktoren bei Kindern von 2017 deutlich. In die Auswertung wurden zehn Studien einbezogen, die zu gegensätzlichen Ergebnissen kamen. Einzelne Studien stellten, wie erwartet, eine Assoziation zwischen *H.p.*-Infektionen und den Risikofaktoren geringes Einkommen, niedriger Bildungsstand, ländliche Wohngegend, Quellwasser, Sanitäranlage ohne Wasserspülung und großer Haushalt fest. In anderen Studien konnte ebenso wie in der vorliegenden kein Zusammenhang zwischen Einkommen, Wasserquelle und der Anzahl der Familienmitglieder gefunden werden (78).

Abschließend lässt sich sagen, dass weiterhin Uneinigkeit darüber besteht, ob und welche Faktoren einen positiven oder negativen Einfluss auf das Infektionsrisiko mit *H.p.* haben. Die Datenlage ist zu uneindeutig, um allgemeingültige Aussagen darüber treffen zu können, ob und welche Faktoren ein erhöhtes *H.p.*-Infektionsrisiko bedingen. Die geringe Reproduzierbarkeit der gefundenen Risikofaktoren wird durch diese Arbeit erneut bestätigt.

4.3.3 Diagnostische Aussagekraft der angewandten Testverfahren

Für die Beurteilung der diagnostischen Aussagekraft von *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut, *H.p.* Koproantigen-Schnelltest und RUT wurden die diagnostischen Gütekriterien Sensitivität, Spezifität, NPW und PPW berechnet. Keiner der drei eingesetzten Schnelltests zeigte eine vergleichbar hohe Sensitivität wie die qRT-PCR, die in dieser Studie als Referenzverfahren diente. Die ermittelten Sensitivitätswerte von *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut-, *H.p.* Koproantigen-Schnelltest und RUT sind deutlich geringer als in der Literatur beschrieben (2, 79, 80). Im Unterschied zu den meisten Arbeiten fiel der RUT (45,9%) und nicht der *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut (51,7%) in dieser Arbeit mit der niedrigsten Sensitivität auf (80, 81). Im Gegensatz zur Sensitivität zeigten alle drei Nachweismethoden eine mit der Literatur vergleichbar hohe Testspezifität (2, 80). Die ermittelten negativen Vorhersagewerte dieser Arbeit sind auffallend niedrig und die positiven Vorhersagewerte mit annähernd 100% bemerkenswert hoch. Bei der Interpretation beider Parameter ist zu beachten, dass die Prävalenz sowohl auf den NPW als auch auf den PPW einen entscheidenden Einfluss nimmt. Die große Ergebnisdifferenz von NPW und PPW ist daher unbedingt im Kontext der hohen Prävalenz zu sehen und durch diese zu erklären. Mögliche Ursachen für die große Diskrepanz zwischen den Sensitivitätser-

gebnissen dieser und anderer Studien könnte die Durchführung und Bewertung durch verschiedene Untersuchende mit unterschiedlichen Maßstäben sein. Eine in dieser Arbeit eingeschränkte Interpretationsobjektivität kann als Erklärungsansatz für die Unterschiede herangezogen werden: Im Rahmen der Testauswertung ist aufgefallen, dass die Ergebnisinterpretation der Tests abhängig von der individuellen Beurteilung der Mitarbeitenden war. Es kam vor, dass sich die Auswertung der gleichen Tests bei vermeintlich nicht eindeutigen Ergebnissen innerhalb der Abteilung unterschied. Beispielsweise gilt für die Schnelltestkassetten von *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut und *H.p.* Koproantigen-Schnelltest, dass durch sehr geringe Infektionsdosen nur eine schwache rote Linie gebildet wird. Dadurch kann es passieren, dass betroffene Tests durch Verkennen der roten Linie fälschlicherweise als „negativ“ beurteilt werden. In *Abbildung 11* ist exemplarisch ein Testergebnis zu sehen, das aus dem beschriebenen Grund zu unterschiedlichen Bewertungen seitens der Untersuchenden führte.

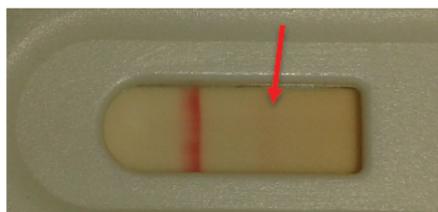


Abb. 11: Beispiel eines von Untersuchenden unterschiedlich bewerteten Testergebnisses

Die Interpretationsobjektivität könnte durch eine vorangestellte Schulung aller betroffenen Mitarbeitenden verbessert werden. Auch eine Probephase, in der ein interner Abgleich der Ergebnisinterpretation der Untersuchenden bei missverständlichen Testergebnissen stattfindet, erscheint sinnvoll, um Fehlinterpretationen bei Studiendurchführung zu vermeiden. Hinsichtlich des RUTs ist zu beachten, dass es während dieser Studie mehrfach aufgrund ungeklärter Ursachen zu einem pH-Umschlag der Urease-Testlösung gekommen ist. Ein pH-Umschlag kann entweder durch die Stoffwechselaktivität von Bakterien wie *H.p.* oder durch chemische Prozesse hervorgerufen werden. Denkbar ist daher, dass in Lösung gegangenes Kohlenstoffdioxid den Farbumschlag verursacht hat. Unwahrscheinlich, jedoch retrospektiv nicht sicher auszuschließen ist aber auch, dass bereits bei der Herstellung der Lösung ein Fehler unterlaufen ist, wodurch die Pufferfunktion der Lösung herabgesetzt war. Auch eine Verunreinigung während des Transports wäre denkbar. Bedauerlicherweise hatte der Lösungsumschlag einen erheblichen „Drop-out“ von 16 Proben zufolge. Darüber hinaus ist nicht auszuschließen, dass die umgeschlagene Lösung unwissend weiter eingesetzt wurde und es somit zu falsch ne-

gativen Testergebnissen kam. Die genannten Gründe könnten die geringen Sensitivitätswerte erklären. Möglich ist aber auch, dass es bei der Biopsieentnahme zu einer Kontamination der Gewebeproben mit *H.p.*-DNA kam³⁰. Kontaminierte Proben mit verschleppter DNA würden in der PCR ein positives Ergebnis hervorrufen, da die entsprechende Gensequenz auch bei abgestorbenen Bakterien nachweisbar ist. Der RUT hingegen wäre weiterhin negativ, da keine lebenden Bakterien vorhanden wären. Gleiches gilt für den *H.p.* Koproantigen- und den *H.p.* Antikörper-Schnelltest, da nur lebende, im Körper zirkulierende Bakterien zu einer AG- und AK-Reaktion führen. Um eine Kontamination in Zukunft sicher auszuschließen, besteht die Möglichkeit, die Biopsiezangen vor jeder neuen Intervention mit einer DNase³¹-Lösung zur DNA-Degradation zu behandeln.

Unter der Annahme, dass die hohe Infektionsrate mittels PCR auf *in vivo* Infektionen basieren, lässt sich festhalten, dass die Ergebnisse für keinen der untersuchten Schnelltests eine gleichwertige Aussagekraft zu den PCR-Ergebnissen zeigen. Der ermittelte Cohens κ von $< 0,2$ verdeutlicht zusätzlich die geringe Übereinstimmung der untersuchten Testverfahren mit der PCR. In der Zusammenschau aller diagnostischen Größen sprechen die Ergebnisse dieser Studie für eine erheblich eingeschränkte diagnostische Aussagekraft der untersuchten Testverfahren. Die ermittelten Sensitivitätswerte sind zu gering, um die untersuchten Testverfahren als neue diagnostische Standardverfahren für Tansania empfehlen zu können. Insbesondere als Screening-Test scheinen die untersuchten Methoden aufgrund der niedrigen Sensitivität wenig geeignet. In Anbetracht der hohen Spezifität sollten die drei Nachweisverfahren entsprechend dieser Studienergebnisse am ehesten als Bestätigungstests in Erwägung gezogen werden.

4.3.4 Resistenzraten von Clarithromycin und Fluorchinolone

Wie erwähnt, sind diagnostische Methoden in ressourcenschwachen Ländern oft nur eingeschränkt verfügbar und nur für einen begrenzten Teil der Allgemeinbevölkerung erschwinglich. Dies sind Gründe, wieso empirische unkalkulierte Antibiotikatherapien ohne zuvor gesicherte Diagnose in diesen Ländern weit verbreitet sind (74).

Der unkontrollierte Antibiotikaeinsatz hat allerdings noch weitere Ursachen: In vielen afrikanischen Ländern inklusive Tansania sind Antibiotika nicht rezeptpflichtig und oft we-

³⁰ Für diese Arbeit wurden wiederverwendbare Biopsiezangen eingesetzt, die zwischen den einzelnen Interventionen autoklaviert wurden.

³¹ DNasen sind Enzyme, die DNA-Stränge schneiden.

niger kostenintensiv als ein Besuch bei Ärztinnen und Ärzten. Dies hat zur Folge, dass Patientinnen und Patienten bei Beschwerden häufig probatorisch eine Eigentherapie beginnen, ohne zuvor eine Ärztin oder einen Arzt aufzusuchen. Eine ungezielte und oft nicht korrekte Einnahme von Antibiotika führt zu steigenden und erschreckend hohen Resistenzraten, so auch in Tansania. Tansanias Regierung erkannte die Notwendigkeit neuer Bewältigungsstrategien, um den steigenden Resistenzraten zu begegnen. Orientiert an dem Globalen Aktionsplan der WHO verfasste sie einen nationalen Aktionsplan zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen (82). Auch die in dieser Arbeit untersuchten *H.p.*-Infektionen sind in besonderem Maße von den steigenden Resistenzen betroffen. Die WHO wies 2017 auf die akute Handlungsnotwendigkeit bei alarmierend hohen Resistenzraten von *H.p.* gegenüber CL hin. Laut einer Pressemitteilung der WHO zählt *H.p.* zu den Bakterien, für die aufgrund steigender Resistenzraten ein hoher Bedarf an neuen Antibiotika besteht (83). Bereits 2003 kamen Oleastro et al. zu dem Schluss, dass CL-resistente Stämme den Hauptgrund für versagende Eradikationstherapien bei *H.p.*-Infektionen darstellen (51). Verdeutlicht wird dies durch die großen Unterschiede bei den Therapieerfolgswahrscheinlichkeiten von CL-sensiblen (90%) und CL-resistenten Stämmen (50%) (51). Die in dieser Arbeit ermittelten Resistenzraten von 28,7% stützen die Annahme, dass CL-Resistenzen in Tansania keine Seltenheit darstellen. Trotz hoher Resistenzraten ist CL jedoch immer noch Bestandteil der aktuellen First-Line-Therapieempfehlung für Tansania (39). Sofern die Ergebnisse dieser Arbeit durch weiterführende Studien bestätigt werden, sollte diese Empfehlung kritisch hinterfragt werden. Eine ähnliche Situation findet sich beim Zweitlinienmedikament LEV, das in dieser Arbeit durch noch höhere *in vitro* Resistenzen auffällt. Bereits im Vorfeld dieser Arbeit konnte durch Studien gezeigt werden, dass die Resistenzraten bei *H.p.*-Infektionen gegenüber LEV alarmierend hoch sind (vgl. Abschnitt 1.8.2). Allerdings liegt die in dieser Studie ermittelte Anzahl resistenter Stämme mit 58,8% sogar noch höher als im Nachbarland Uganda (42%) (63). Diese Ergebnisse zeigen, dass mittlerweile auch Second-Line-Antibiotika in hohem Maß von steigenden Resistenzen betroffen sind. Damit die Bedeutung der Reserveantibiotika wie LEV als verlässliche Aushilfsmedikamente auch in Zukunft nicht verloren geht, sind ein Umdenken und eine kontrollierte Zurückhaltung im Umgang mit ihnen dringend erforderlich. Denn mit steigenden Resistenzraten steigt die Zahl derer, für die keine adäquate Therapie mehr zur Verfügung steht, was dramatische Folgen haben kann.

Bei der Ergebnisinterpretation dieser Arbeit ist weiterhin zu beachten, dass die detektierten Mutationen genotypische (*in vitro*) Resistenzen abbilden. Diese liegen zwar mit einer hohen Wahrscheinlichkeit auch phänotypisch (*in vivo*) vor, für den endgültigen

Nachweis von phänotypisch ausgeprägten Resistenzen sind sie jedoch nicht ausreichend. Um diesbezüglich Aussagen treffen zu können, sind phänotypische Empfindlichkeitstestungen und eine klinische Überwachung des Therapieerfolgs erforderlich (2).

Die molekulargenetische Resistenztestung zeigte neben Einfachmutationen auch einen Polymorphismus aus Wildtyp-Allel und Einzelmutation. Ein Erklärungsansatz für dieses Phänomen ist, dass die Untersuchten mit unterschiedlichen *H.p.*-Stämmen infiziert sind. Denkbar ist auch, dass sich der *H.p.*-Stamm aktuell im Prozess der Resistenzentwicklung befindet und neben bereits mutierten zusätzlich noch Bakterien des Ausgangsstamms vorhanden sind. Die am häufigsten vertretenen Mutationen im *23S-Gen* waren in dieser Arbeit an Position A2142 und A2143 lokalisiert. Diese Mutationslokalisationen wurden bereits in anderen Arbeiten als prädominante Positionen beschrieben (5, 62). In der Arbeit von Caliskan et al. (2015) wurde außerdem über die Mutation A2144G berichtet, die in dieser Arbeit jedoch nicht vertreten war (6). Auch bei den resistenzcodierenden Mutationen für *gyrA* stimmen die Mutationslokalisationen dieser Arbeit mit anderen überein. Allerdings unterscheiden sich die Häufigkeitsverteilungen hinsichtlich der ausgetauschten Base. In der vorliegenden Untersuchung war die Mutation N87I zwanzigmal und damit am häufigsten vertreten, wohingegen in anderen Arbeiten überwiegend die Mutation N87K auftrat (71, 84). Mit Ausnahme von A92T sind alle entdeckten Mutationen, die das *gyrA*-Gen betreffen, als resistenzverursachende Mutationen bereits beschrieben worden. Um herauszufinden, ob es sich bei A92T um eine resistenzvermittelnde Mutation handelt, könnte diese Mutation durch gerichtete Mutagenese³² in einen Laborstamm eingefügt werden. Dabei wird die Punktmutation A92T aus synthetischen Oligonukleotiden hergestellt und in den Laborstamm eingefügt. Anschließend folgt die Testung, ob durch die Mutation eine phänotypische Resistenz hervorgerufen wird. Gegen eine Resistenzmutation spricht allerdings, dass die Position 92 knapp außerhalb der beschriebenen QRDR liegt (85).

4.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse weisen nicht nur auf eine hohe *H.p.*-Prävalenz hin, sondern zeigen auch die weite Verbreitung von resistenten Stämmen innerhalb der tansanischen Bevölkerung. Diese Erkenntnisse stellen die hohe Relevanz und anhaltende Aktualität der Thematik heraus und verdeutlichen den dringenden Handlungsbe-

³² Gezieltes Einfügen von Mutationen durch synthetisch hergestellte Oligonukleotide.

darf sowohl in der Infektions- und Resistenzdiagnostik, als auch in der Prävention von *H.p.*-Infektionen. Ziel der diagnostischen Testvergleiche war es, ein sicheres und kostengünstiges Verfahren ausfindig zu machen, dessen Etablierung unter den örtlichen Gegebenheiten perspektivisch realisierbar ist. Den Studienergebnissen zufolge kann eine Empfehlung aufgrund der niedrigen Sensitivitäts- und NPW-Werte für keinen der untersuchten Tests ausgesprochen werden. Einer für Tansania geeigneten *H.p.* Screening-Methode sollte daher unbedingt in weiterführenden Studien nachgegangen werden. Darüber hinaus ist eine Überprüfung der Studienergebnisse und die Untersuchung übriger Testverfahren, wie der Histologie, zu empfehlen. Im Gegensatz zu anderen Arbeiten konnten durch diese keine eindeutigen Risikofaktoren für *H.p.*-Infektionen identifiziert werden. Eine erneute Evaluation der Risikofaktoren scheint daher angemessen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit im Kontext der aktuellen Datenlage zeigen, wie wichtig es ist, die Entwicklung der Resistenzlage in Tansania weiterhin aufmerksam zu verfolgen. Aufgrund der hohen Resistenzraten sollten Strukturen geschaffen werden, die eine routinemäßige Resistenztestung möglich machen. Die hohen bereits vor Therapiebeginn bestehenden Resistenzen gegenüber Erst- und Zweitlinienmedikamenten, wie CL und LEV in Tansania, unterstreichen die Relevanz von Resistenztestungen. Eine routinemäßige Antibiogrammerstellung nicht nur bei Therapieversagen, sondern auch bei erhöhtem prätherapeutischem Risiko wäre wünschenswert. Überprüft werden sollte daher im nächsten Schritt, ob die Erstellung von Antibiogrammen in Tansania bei Personen mit einem erhöhten Resistenzrisiko bereits vor Therapieeinleitung realisierbar ist. Dies würde die Chancen auf eine adäquate Therapie deutlich steigern und therapeutisches Versagen voraussichtlich senken. Der Nationale Handlungsplan zeigt, dass die wachsende Herausforderung von Tansanias Regierung erkannt wurde und sie reagiert hat. Im nächsten Schritt gilt es nun, das Konzept umzusetzen (82).

Die bisher dargestellten Vorbehalte in Bezug auf die Reichweite der vorgelegten Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass es noch weiterer Untersuchungen bedarf, um valide Aussagen über die Prävalenz, Resistenzlage und mögliche Prädiktoren von *H.p.*-Infektionen treffen zu können. Die Erfahrungen dieser Studie zeigen, dass für künftige Untersuchungen ein verändertes Studiendesign wünschenswert wäre, das eine Reihe von Voraussetzungen erfüllt: Ein zentraler Aspekt stellt dabei die Organisation dar. Es sollte bereits bei Studienplanung bedacht werden, dass ausreichend Personal und eine adäquate materielle Ausstattung vorhanden sein muss. Andernfalls kann es passieren, dass sich die Laufzeit unerwartet verlängert, wie dies in der vorliegenden Arbeit der Fall war.

Eine Kontrollinstanz und eine kontinuierliche Betreuung vor Ort durch Mitarbeitende, die die Arbeit koordinieren, sollten sichergestellt sein. Aufgrund der räumlichen Distanz und der zeitlichen Verzögerung war dies in dieser Arbeit nicht dauerhaft gegeben. Außerdem ist vorab eine studienspezifische Schulung von allen Mitwirkenden empfehlenswert, um ein Problembewusstsein für die jeweilige Thematik zu schaffen und um studienspezifische Fertigkeiten weiter zu geben. Auch sind das Durchlaufen und die anschließende Evaluation einer vorangestellten Testphase unabdingbar, um Fehlerquellen vorzeitig identifizieren und korrigieren zu können. Wie vorab diskutiert, wäre zudem ein Fragebogen in der Muttersprache wünschenswert, um eine hohe Durchführungsobjektivität zu gewährleisten.

Die hier aufgeführten Anregungen für ein verändertes Studiendesign sind als mögliche Lösungsansätze zu verstehen. Wenn solche konzeptionellen Änderungen des Forschungsdesigns bei künftigen empirischen Untersuchungen umgesetzt werden können, sind mit hoher Wahrscheinlichkeit aussagekräftigere Ergebnisse zu erwarten. Die noch immer uneinheitliche Datenlage verdeutlicht die Notwendigkeit weiterführender Studien zu möglichen Risikofaktoren, diagnostischen Methoden und der Resistenzentwicklung von *H.p.*-Infektionen.

5 Zusammenfassung

Hintergrund: Die weltweit steigenden Antibiotikaresistenzen sind zu einer globalen Herausforderung geworden. Von dieser Entwicklung betroffen ist auch das Bakterium *Helicobacter Pylori* (*H.p.*), welches in Ländern des afrikanischen Kontinents besonders hohe Prävalenzraten aufweist. In ressourcenschwachen Ländern wie Tansania ist aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit diagnostischer Testverfahren die Identifizierung und Therapie von *H.p.* infizierten Personen oft unzureichend.

Methoden: Diese Arbeit befasste sich mit der Prävalenzbestimmung und Evaluierung potentieller Risikofaktoren von *H.p.*-Infektionen bei Patientinnen und Patienten mit epigastrischen Beschwerden in Tansania. Die Ergebnisse basieren auf der Befragung und diagnostischen Untersuchung von 204 Tansanierinnen und Tansaniern mit epigastrischen Beschwerden. Zur Identifizierung möglicher infektionsassoziierten Faktoren wurden mittels Fragebögen soziodemographische und klinische Merkmale sowie Aspekte der Lebensgewohnheiten und Lebensumstände der Probanden erhoben und statistisch ausgewertet. Die Prävalenzbestimmung des untersuchten Studienkollektivs erfolgte anhand der auf dem 23S-rDNA Gen basierten qRT-PCR, welche für diese Arbeit als Referenzverfahren definiert wurde. Die resistenzcodierenden DNA-Abschnitte: die 23S-rDNA Genregion und das *gyrA*-Gen wurden auf bekannte Resistenzmutationen gegen CL- und FQ-Antibiotika hin sequenziert und ausgewertet. Darüber hinaus wurden die drei Schnelltestverfahren *H.p.* Antikörper-Schnelltest aus Vollblut, *H.p.* Koproantigen-Schnelltest und RUT auf ihre Testgenauigkeit und Anwendbarkeit in Tansania untersucht und mit den PCR-Ergebnissen verglichen.

Ergebnisse: Die in dieser Arbeit ermittelte Prävalenz des untersuchten Studienkollektivs lag bei 92,2%. In der Untersuchung von potenziellen Einflussfaktoren auf eine *H.p.*-Infektion konnte bei keinem Merkmal ein statistisch signifikanter Zusammenhang zu einer *H.p.*-Infektion festgestellt werden. Durch Sequenzierung des 23S-Gens konnte bei 28,7% der als *H.p.*-positiv identifizierten Proben bekannte CL-Resistenzmutationen nachgewiesen werden. Die Sequenz der *gyrA*-Genregion konnte bei 70,7% der *H.p.*-positiven Proben amplifiziert werden. Bei 58,8% davon fanden sich resistenzcodierende Mutationen innerhalb der Quinolone Resistance-Determining Region (QRDR). 16 Proben (11,9%) wiesen zusätzlich an Position 92 einen Basenaustausch von Alanin zu Threonin auf. Die Untersuchung der drei Schnelltestverfahren erbrachte eine stark eingeschränkte Testgenauigkeit (Cohens κ von $<0,2$.) aller drei Verfahren. Die anhand der Schnelltests de-

tektierten Prävalenzraten lagen mit 56,9%, 48,4% und 38,7% deutlich niedriger als bei der qRT-PCR (92,2%). Keiner der untersuchten Schnelltestverfahren wies hinsichtlich der diagnostischen Sicherheit vergleichbare Werte wie die qRT-PCR auf.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse dieser Studie deuten auf eine weite Verbreitung von *H.p.*-Infektionen bei Patientinnen und Patienten mit epigastrischen Beschwerden in Tansania hin. Die darüber hinaus festgestellte hohe Anzahl molekulargenetisch nachgewiesener Resistenzraten von *H.p.*-Stämmen gegenüber Antibiotika verdeutlichen die Wichtigkeit einer sicheren Diagnostik und resistogrammgerechten Therapie im Klinikalltag. Die in dieser Arbeit untersuchten Schnelltestmethoden scheinen aufgrund der geringen Sensitivitäts- und NPW-Werte als Standardverfahren hierfür nicht geeignet. Die Etablierung einer routinemäßig durchgeführten prätherapeutischen Antibiogrammerstellung und eine daran angepasste Therapie wären wünschenswert.

6 Literaturverzeichnis

1. Suerbaum S, Hahn H, Burchard G-D, Kaufmann SH, Schulz TF. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Berlin Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012.
2. Fischbach W, Malfertheiner P, Lynen Jansen P, Hoffmann JC, Bolten W, Buderus S, et al. S2k- Leitlinie Helicobacter und gastroduodenale Ulkuskrankheit. Z Gastroenterol. 2016(54):327-63.
3. Group IW. Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 1994;61:1-241.
4. Aftab H, Miftahussurur M, Subsomwong P, Ahmed F, Khan AK, Yamaoka Y. Helicobacter pylori antibiotic susceptibility patterns in Bangladesh: Emerging levofloxacin resistance. Journal of infection in developing countries. 2016;10(3):245-53.
5. Rajper S, Khan E, Ahmad Z, Alam SM, Akbar A, Hasan R. Macrolide and fluoroquinolone resistance in Helicobacter pylori isolates: an experience at a tertiary care centre in Pakistan. J Pak Med Assoc. 2012;62(11):1140-4.
6. Caliskan R, Tokman HB, Erzin Y, Saribas S, Yuksel P, Bolek BK, et al. Antimicrobial resistance of Helicobacter pylori strains to five antibiotics, including levofloxacin, in Northwestern Turkey. Rev Soc Bras Med Trop. 2015;48(3):278-84.
7. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SSW, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection: Current options and developments. World journal of gastroenterology. 2015;21(40):11221-35.
8. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology. 2017;153(2):420-9.
9. Braden B, Kist M. Epidemiologie und Diagnostik der Helicobacter pylori-Infektion. In: Caspary WF, Kist M, Stein J, editors. Infektiologie des Gastrointestinaltraktes. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006. p. 159-69.
10. Fischbach W, Malfertheiner P, Hoffmann JC, Bolten W, Kist M, Koletzko S. Helicobacter pylori und gastroduodenale Ulkuskrankheit. Deutsches Ärzteblatt. 2009(49):801-9.
11. Aoki K, Kihaille PE, Castro M, Disla M, Nyambo TB, Misumi J. Seroprevalences of Helicobacter pylori infection and chronic atrophic gastritis in the united Republic of Tanzania and the Dominican Republic. Environ Health Prev Med. 2004;9(4):170-5.

12. Etukudo OM, Ikpeme EE, Ekanem EE. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection among children seen in a tertiary hospital in Uyo, southern Nigeria. *Pan Afr Med J.* 2012;12.
13. Kimang'a AN, Revathi G, Kariuki S, Sayed S, Devani S. *Helicobacter pylori*: prevalence and antibiotic susceptibility among Kenyans. *S Afr Med J.* 2010;100(1):53-7.
14. Mathewos B, Moges B, Dagne M. Seroprevalence and trend of *Helicobacter pylori* infection in Gondar University Hospital among dyspeptic patients, Gondar, North West Ethiopia. *BMC Res Notes.* 2013;6:346.
15. Walker TD, Karemera M, Ngabonziza F, Kyamanywa P. *Helicobacter pylori* status and associated gastroscopic diagnoses in a tertiary hospital endoscopy population in Rwanda. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2014;108(5):305-7.
16. Ayana SM, Swai B, Maro VP, Kibiki GS. Upper gastrointestinal endoscopic findings and prevalence of *Helicobacter pylori* infection among adult patients with dyspepsia in northern Tanzania. *Tanzania journal of health research.* 2014;16(1):16-22.
17. Crowe SE. Bacteriology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection 11.05.2016 [Available from: <http://www.uptodate.com/contents/bacteriology-and-epidemiology-of-helicobacter-pylori-infection?source=machineLearning&search=helicobacter+pr%C3%A4valenz&selectedTitle=1%7E150§ion-Rank=1&anchor=H5#H5>].
18. Mbulaiteye SM, Gold BD, Pfeiffer RM, Brubaker GR, Shao J, Biggar RJ, et al. *H. pylori*-infection and antibody immune response in a rural Tanzanian population. *Infect Agent Cancer.* 2006;1:3.
19. Mhaskar RS, Ricardo I, Azliyati A, Laxminarayan R, Amol B, Santosh W, et al. Assessment of risk factors of *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease. *J Glob Infect Dis.* 2013;5(2):60-7.
20. Zhu Y, Zhou X, Wu J, Su J, Zhang G. Risk Factors and Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Persistent High Incidence Area of Gastric Carcinoma in Yangzhong City. *Gastroenterology research and practice.* 2014;2014.
21. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: what should be the gold standard? *World journal of gastroenterology.* 2014;20(36):12847-59.
22. Caspary WF, Kist M, Stein J. Infektiologie des Gastrointestinaltraktes. In: Stein J, editor. *Molekulare Mikrobiologie und Immunpathogenese von Helicobacter pylori.* Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2006. p. 151-7.
23. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet.* 1984;1(8390):1311-5.
24. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature.* 1997;388(6642):539-47.

25. Roesler BM, Rabelo-Gonçalves EM, Zeitune JM. Virulence Factors of *Helicobacter pylori*: A Review. *Clin Med Insights Gastroenterol*. 2014;7:9-17.
26. Dundon WG, de Bernard M, Montecucco C. Virulence factors of *Helicobacter pylori*. *International journal of medical microbiology : IJMM*. 2001;290(8):647-58.
27. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. *Ann Transl Med*. 2015;3(1):9.
28. Jensen PJ, Feldmann M. Metaplastic (chronic) atrophic gastritis 2019 [Available from: https://www.uptodate.com/contents/metaplastic-chronic-atrophic-gastritis/print?search=autoimmungastritis&source=search_result&selected-Title=1~100&usage_type=default&display_rank=1].
29. Brenner H, Rothenbacher D. *Helicobacter-pylori*-Infektion und Magenkrebs – eine unterschätzte Beziehung. *Deutsches Ärzteblatt*. 2005;102(24).
30. Cancer IAfRo, WHO. Estimated number of deaths, both sexes, worldwide in 2012 2012 [Available from: http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?mode=cancer&mode_population=continents&population=900&sex=0&cancer=29&type=1&statistic=0&prevalence=0&color_palette=default].
31. Holcombe C. *Helicobacter pylori*: the African enigma. *Gut*. 1992;33(4):429-31.
32. Mbulaiteye SM, Hisada M, El-Omar EM. *Helicobacter Pylori* associated global gastric cancer burden. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. 2009;14:1490-504.
33. Kitinya JN, Lauren PA, Jones ME, Paljarvi L. Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the Mount Kilimanjaro area, Tanzania. *Afr J Med Med Sci*. 1988;17(2):89-95.
34. Treiber G, Kist M, Klotz U, Peitz U, Malfertheiner P. Therapie der *Helicobacter-pylori*-Infektion: Klinische, mikrobiologische und pharmakologische Aspekte. *Dtsch Arztebl International*. 2005;102(26):1883-.
35. Garza-Gonzalez E, Perez-Perez GI, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(6):1438-49.
36. Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. *World journal of gastroenterology*. 2013;19(45):8188-91.
37. Krause R, Müller G, Doniec M. Evaluation of a rapid new stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult patients. *Journal of clinical microbiology*. 2008;46(6):2062-5.
38. Crowe SE. Indications and diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection uptodate01.11. 2017 [Available from: https://www.uptodate.com/contents/indications-and-diagnostic-tests-for-helicobacter-pylori-infection?search=helicobacter%20stool&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H27].

39. WELFARE MOHAS. STANDARD TREATMENT GUIDELINES AND ESSENTIAL MEDICINES LIST 2013 [4:[Available from: http://www.who.int/selection_medicines/country_lists/Tanzania_STG_052013.pdf.
40. Crowe SE. Treatment regimes for *Helicobacter pylori* UpToDate2018 [updated 02.01.2018. Available from: https://www.uptodate.com/contents/treatment-regimens-for-helicobacter-pylori?search=treatment-regimens-for-helico&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3.
41. Wirth HP, Bauerfeind P. Strategien der *Helicobacter-pylori*-Eradikation. *Der Gastroenterologe*. 2006;1(4):266-71.
42. Stanislas Doffou A, Alain Attia K, Fulgence Yao Bathaix M, Demba Bangoura A, Henriette Kissy-Anzouan Y, Dimitri Kouamé H, et al. The *Helicobacter pylori* Eradication Rate in a High Prevalence Area (West Africa): Three Triple Therapy Comparative Study2015. 200-6 p.
43. Höck M. Makrolide. In: Suerbaum S, Hahn H, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, editors. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 733-5.
44. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*. 2017;66(1):6-30.
45. Fille M. Fluorchinolone. In: Suerbaum S, Hahn H, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, editors. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 738-40.
46. Hooper DC. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*. 2000;31 Suppl 2:S24-8.
47. Suárez I, Fünfer SM, Kröger S, Rademacher J, Fätkenheuer G, Rybniker J. Diagnostik und Therapie der Tuberkulose. *Dtsch Arztebl International*. 2019;116(43):729-35.
48. Ziesing S, Fille M. Resistenz. In: Suerbaum S, Hahn H, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, editors. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 699-701.
49. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, Griffy MV, Beyer J, Flamm RK, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1996;40(2):477-80.
50. Menard A, Santos A, Megraud F, Oleastro M. PCR-restriction fragment length polymorphism can also detect point mutation A2142C in the 23S rRNA gene, associated with *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002;46(4):1156-7.
51. Oleastro M, Menard A, Santos A, Lamouliatte H, Monteiro L, Barthelemy P, et al. Real-time PCR assay for rapid and accurate detection of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*. *Journal of clinical microbiology*. 2003;41(1):397-402.

52. Schmitt BH, Regner M, Mangold KA, Thomson RB, Jr., Kaul KL. PCR detection of clarithromycin-susceptible and -resistant *Helicobacter pylori* from formalin-fixed, paraffin-embedded gastric biopsies. *Mod Pathol*. 2013;26(9):1222-7.
53. Eghbali Z, Mojtahedi A, Moien Ansar M, Fakhrieh Asl S, Aminian K. Detection of 23SrRNA Mutations Strongly Related to Clarithromycin Resistance in *Helicobacter pylori* Strains Isolated From Patients in the North of Iran. *Jundishapur journal of microbiology*. 2016;9(2):e29694.
54. Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018.
55. Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, Gupta S, Park JY, Crowe SE, et al. Review article: the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(4):514-33.
56. Ghotaslou R, Leylabadlo HE, Asl YM. Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: A recent literature review. *World Journal of Methodology*. 2015;5(3):164-74.
57. Ierardi E, Giorgio F, Losurdo G, Di Leo A, Principi M. How antibiotic resistances could change *Helicobacter pylori* treatment: A matter of geography? *World journal of gastroenterology*. 2013;19(45):8168-80.
58. Park JY, Dunbar KB, Mitui M, Arnold CA, Lam-Himlin DM, Valasek MA, et al. *Helicobacter pylori* Clarithromycin Resistance and Treatment Failure Are Common in the USA. *Dig Dis Sci*. 2016;61(8):2373-80.
59. Papastergiou V, Mathou N, Licousi S, Evgenidi A, Paraskeva KD, Giannakopoulos A, et al. Seven-day genotypic resistance-guided triple *Helicobacter pylori* eradication therapy can be highly effective. *Annals of gastroenterology*. 2018;31(2):198-204.
60. Abadi ATB. Resistance to clarithromycin and gastroenterologist's persistence roles in nomination for *Helicobacter pylori* as high priority pathogen by World Health Organization. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(35):6379-84.
61. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, Lopez-Brea M, Hirschl AM, et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut*. 2013;62(1):34-42.
62. Liou JM, Chang CY, Sheng WH, Wang YC, Chen MJ, Lee YC, et al. Genotypic resistance in *Helicobacter pylori* strains correlates with susceptibility test and treatment outcomes after levofloxacin- and clarithromycin-based therapies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2011;55(3):1123-9.
63. Angol DC, Ocama P, Ayazika Kirabo T, Okeng A, Najjingo I, Bwanga F. *Helicobacter pylori* from Peptic Ulcer Patients in Uganda Is Highly Resistant to Clarithromycin and Fluoroquinolones: Results of the GenoType HelicoDR Test Directly Applied on Stool. *BioMed research international*. 2017;2017:5430723.

64. Wueppenhorst N, Stueger H-P, Kist M, Glocker E-O. High secondary resistance to quinolones in German *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(7):1562-6.
65. Papastergiou V, Georgopoulos SD, Karatapanis S. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: Meeting the challenge of antimicrobial resistance. *World journal of gastroenterology.* 2014;20(29):9898-911.
66. Aboderin OA, Abdu AR, Odetoyin B' W, Okeke IN, Lawal OO, Ndububa DA, et al. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* from patients in Ile-Ife, South-west, Nigeria. *Afr Health Sci.* 2007;7(3):143-7.
67. Abdollahi H, Savari M, Zahedi MJ, Moghadam SD, Hayatbakhsh Abasi M. Detection of A2142C, A2142G, and A2143G Mutations in 23s rRNA Gene Confering Resistance to Clarithromycin among *Helicobacter pylori* Isolates in Kerman, Iran. *Iranian journal of medical sciences.* 2011;36(2):104-10.
68. Ontsira Ngoyi EN, Atipo Ibara BI, Moyen R, Ahoui Apendi PC, Ibara JR, Obengui O, et al. Molecular Detection of *Helicobacter pylori* and its Antimicrobial Resistance in Brazzaville, Congo. *Helicobacter.* 2015;20(4):316-20.
69. Seck A, Burucoa C, Dia D, Mbengue M, Onambele M, Raymond J, et al. Primary antibiotic resistance and associated mechanisms in *Helicobacter pylori* isolates from Senegalese patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2013;12:3.
70. Altman DG. *Practical statistics for medical research.* 1 ed: Chapman and Hall/CRC; 1990.
71. Garcia M, Raymond J, Garnier M, Cremniter J, Burucoa C. Distribution of spontaneous *gyrA* mutations in 97 fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* isolates collected in France. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2012;56(1):550-1.
72. Francesco VD, Zullo A, Hassan C, Giorgio F, Rosania R, Ierardi E. Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: An updated appraisal. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2011;2(3):35-41.
73. Asombang AW, Kelly P. Gastric cancer in Africa: what do we know about incidence and risk factors? *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012;106(2):69-74.
74. Oling M, Odongo J, Kituuka O, Galukande M. Prevalence of *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients at a tertiary hospital in a low resource setting. *BMC Res Notes.* 2015;8.
75. Mbulaiteye S, Gold B, Pfeiffer R, R Brubaker G, Shao J, J Biggar R, et al. *H. pylori*-infection and antibody immune response in a rural Tanzanian population2006. 3 p.
76. Workineh M, Andargie D. A 5-year trend of *Helicobacter pylori* seroprevalence among dyspeptic patients at Bahir Dar Felege Hiwot Referral Hospital, North-west Ethiopia2016. 17-22 p.

77. Lim SH, Kwon J-W, Kim N, Kim GH, Kang JM, Park MJ, et al. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in Korea: Nationwide multicenter study over 13 years. *BMC Gastroenterol.* 2013;13(1):104.
78. Ozbey G. Epidemiology, Diagnosis, and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Infection in Children. 2017;7(1):34-9.
79. Zhou X, Su J, Xu G, Zhang G. Accuracy of stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: a meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2014;38(5):629-38.
80. Pourakbari B, Ghazi M, Mahmoudi S, Mamishi S, Azhdarkosh H, Najafi M, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by invasive and noninvasive tests. *Braz J Microbiol.* 2013;44(3):795-8.
81. Abdulqawi K, El-Mahalaway AM, Abdelhameed A, Abdelwahab AA. Correlation of serum antibody titres with invasive methods for rapid detection of *Helicobacter pylori* infections in symptomatic children. *Int J Exp Pathol.* 2012;93(4):295-304.
82. Children MoHCDGEa. THE NATIONAL ACTION PLAN ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE 2017-2022 2017 [Available from: <http://www.afro.who.int/sites/default/files/2017-07/NATIONAL%20ACTION%20PLAN%20FNL%2010%20May%202017.pdf>].
83. Shrivastava S, Shrivastava P, Ramasamy J. World Health Organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics: World Health Organization; 2017 [Available from: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1].
84. Lee JW, Kim N, Nam RH, Park JH, Kim JM, Jung HC, et al. Mutations of *Helicobacter pylori* associated with fluoroquinolone resistance in Korea. *Helicobacter.* 2011;16(4):301-10.
85. Glocker E, Stueger HP, Kist M. Quinolone resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Germany. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2007;51(1):346-9.

Appendix

I Abkürzungsverzeichnis

Ala	Alanin
AK	Antikörper
AMX	Amoxicillin
AS	Aminosäure
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure/Aspartat
bp	Basenpaar
BMC	Bugando Medical Centre
BMI	Körpermasseindex (eng.: Body-Mass-Index)
C	Cytosin
cag	cytotoxin-associated genes
CL	Clarithromycin
CUHAS	Catholic University of Health and Allied Science
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
DNA	Desoxyribonukleinsäure (eng.: desoxyribonucleic acid)
ELISA	Enzymimmunoassay (eng.: Enzyme linked Immunosorbent Assay)
FQ	Fluorchinolon
G	Guanin
GI	gastrointestinal
H.p.	Helicobacter pylori
KS-Test	Kolmogorow-Smirnow-Test
LEV	Levofloxacin
MALT	Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe
MNZ	Metronidazol
MXF	Moxifloxacin
NPW	negativer prädiktiver Wert
ÖGD	Ösophagogastroduodenoskopie
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerasekettenreaktion (eng.: polymerase chain reaction)
PPI	Protonenpumpeninhibitor

PPW	positiver prädiktiver Wert
p.o.	über/ durch den Mund (eng.: peroral, lat.: per os)
qRT-PCR	quantitativer Real-Time PCR
QRDR	Fluorchinolonresistenz codierender DNA-Abschnitt (eng.: quinolone resistance-determining regions)
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute (eng.: revolutions per minute)
RUT	Urease-Schnelltest (eng.: rapid urease test)
Thr	Threonin
Tyr	Tyrosin
U-Test	Mann-Whitney-U-Test
Vorh.	Vorherige
WHO	Weltgesundheitsorganisation (eng.: World Health Organisation)
WT	Wildtyp

Außerdem wurden allgemein gebräuchliche Abkürzungen verwendet.

II **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1:	Testmaterialien und mögliche Testergebnisse des SureScreen Schnelltests.....	29
Abb. 2:	Testmaterialien und mögliche Testergebnisse des Bioline Ag-Schnelltests.....	30
Abb. 3:	Ösophagogastroduodenskopie mit Biopsiegewinnung	31
Abb. 4:	Mögliche Testergebnisse des RUTs.....	32
Abb. 5:	Altersverteilung	41
Abb. 6:	BMI-Verteilung	43
Abb. 7:	PCR Ergebnisse der 23S Genregion.....	48
Abb. 8:	Ausschnitt aus der 23S-rDNA.....	51
Abb. 9:	DNA-Chromatogramme.....	52
Abb. 10:	Ausschnitt aus der gyrA-rRNA Genregion	54
Abb. 11:	Beispiel eines von Untersuchenden unterschiedlich bewerteten Testergebnisses.....	66

III Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Übersicht relevanter Testmethoden für diese Studie	7
Tab. 2:	Sensitivität und Spezifität unterschiedlicher Testverfahren (modifiziert nach S2k-Leitlinie 2016 der DGVS).....	7
Tab. 3:	Relevante Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Testverfahren	8
Tab. 4:	Gegenüberstellung ausgewählter Störfaktoren.....	9
Tab. 5:	Etablierte Standardtherapien zur <i>H.p.</i> -Eradikation in Deutschland und Tansania	14
Tab. 6:	Genotypische CL- bzw. FQ- Resistenzmutationen	17
Tab. 7:	Übersicht über in der Studie eingesetzte Geräte	21
Tab. 8:	Übersicht über in der Studie eingesetzte Verbrauchsmaterialien.....	22
Tab. 9:	Übersicht über in der Studie eingesetzte Reagenzien und Reagenzienansätze.....	23
Tab. 10:	Übersicht über in der Studie eingesetzte Chemikalien und Testlösungen.....	23
Tab. 11:	Übersicht über in der Studie eingesetzte Oligonukleotide.....	24
Tab. 12:	Ein- und Ausschlusskriterien dieser Studie.....	26
Tab. 13:	qRT-PCR Light Cycler Programm: <i>Helicobacter Pylori</i> 23S-Gen	33
Tab. 14:	qRT-PCR Light Cycler Programm: <i>Helicobacter pylori</i> gyrA-Gen	34
Tab. 15:	Sequenzierungsansätze für das 23S- und gyrA-Gen.....	34
Tab. 16:	Metrische Definition der Merkmale Alter und BMI.....	36
Tab. 17:	Kategoriale Definition der für diese Studie relevanten nominalen Variablen.....	36
Tab. 18:	Zusammenfassung der untersuchten Merkmale unter Nennung des Skalenniveaus.....	37
Tab. 19:	Häufigkeitsverteilung vom Alter	40
Tab. 20:	Häufigkeitsverteilung soziodemographischer Faktoren in Gegenüberstellung mit dem PCR Status	42
Tab. 21:	Häufigkeitsverteilung vom BMI	42
Tab. 22:	Häufigkeitsverteilung infektionsrelevanter Lebensumstände des Studienkollektivs in Gegenüberstellung mit dem PCR Status	44

Tab. 23:	Häufigkeitsverteilung infektionsbezogener anamnestischer Daten in Gegenüberstellung mit dem PCR Status	45
Tab. 24:	Ergebnisdarstellung der Signifikanzprüfung für das Vorliegen einer <i>H.p.</i> -Infektion anhand ausgewählter Merkmale.....	47
Tab. 25:	Häufigkeitsverteilung der Testergebnisse.....	49
Tab. 26:	Statistische Gütekriterien der untersuchten Testverfahren	50
Tab. 27:	Detektierte Mutationen innerhalb der 23S-rDNA.....	51
Tab. 28:	Identifizierte Punktmutationen in der QRDR-Region des <i>gyrA</i> -Gens	53
Tab. 29:	Detektierte Mutationen innerhalb des <i>gyrA</i> -Gens	54
Tab. 30:	Übersicht über die Verteilung von <i>Helicobacter pylori</i> -Resistenzgenen und resistenzcodierenden Mutationen.....	55

IV Studienrelevante Dokumente

IV.a Fragebogen auf Englisch

Questionnaire form Helicobacter Pylori study

Instructions: *Please respond to or circle the appropriate answers of the following questions*

Study No.: **Initials:**

Sex: m/f

Age: (<18 = exclusion/ >18)

1.) Personal Demographics

- 1.1) Profession: unemployed / small scale business / professional, business owner or government employee / student / retired / others:
- 1.2) School education: none / primary / secondary / college or university degree
- 1.3) Marital status: single / engaged / married / divorced / widow, widower
- 1.4) How many people, other than you, live in your household?
0 / 1 / 2 / 3 / 4 / 5 / more than 5
- 1.5) From which district: Ilemela / Kwimba / Magu / Misungwi / Nyamagana / Sengerema / Ukerewe / other:
- 1.6) Place of residence: urban / suburban / rural
- 1.7) Water supply: bottle / tap / well / spring / river or lake / others:.....
- 1.8) Sanitary supply: none / latrine / flush toilet / others:
- 1.9) Smoking: yes / no
- 1.10) Meat consumption: often (>3 times a week) / sometimes (< 3 times a week, > once a months) / rarely (< once a months) / never
- 1.11) Weight: Height: BMI: (kg/m²)
- 1.12) Unwanted weight loss in the past six months: yes / no

2.) Medical History

- 2.1) Antibiotic therapy within past 30 days for any reason: yes = **exclusion** / no
- 2.2) Regularly taken medications: yes / no

- a) If yes, what type of drugs:/ name:/ unknown
- 2.3) Previously diagnosed *H.p.* infection yes / no
- a) If yes, when was it?
< 1 month, 1-6 months, > 7months - 12 months, > 1 year ago
- b) If yes, how was it diagnosed?
Clinical diagnosis/ Blood test / Stool test / OGD Biopsy
- 2.4) Have you ever been treated for *H.p.* infection? yes/ no
- a) If yes, which medication: / unknown
- b) How did you get the medication?
Self-medication / Recommended by a pharmacist / Prescribed by a doctor
- 2.5) Other family members diagnosed to have H.p? yes / no
- 2.6) Previous gastroscopies yes / no
- a) If yes, previous pathologies detected: yes / no / not applicable
- b) If yes,
- Duodenal ulcer yes / no
 - Gastric ulcer yes / no
 - Gastric /esophageal malignancy yes / no
 - Other:
- 3.) Dyspeptic symptoms:**
- 3.1) Chronic or recurrent pain in the upper abdomen yes / no
- a) If yes, since when: days / weeks / months / years
- 3.2) Loss of appetite yes / no
- a) If yes, since when: days/ weeks /months / years
- 3.3) Upper abdominal fullness / feeling full earlier than expected when eating yes / no
- a) If yes, since when: days/ weeks / months/ years
- 3.4) Belching yes / no

- 3.5) Indigestion yes / no
a) If yes, since when: days/ weeks/ months/ years
- 3.6) Flatulence yes / no
a) If yes, since when: days/ weeks/ months/ years
- 3.7) Nausea yes / no
a) If yes, since when: days/ weeks/ months/ years
- 3.8) Vomiting yes / no
a) If yes, since when: days/ weeks/ months/ years
- 3.9) Heartburn (burning sensation behind the sternum) yes / no
a) If yes, since when: days/ weeks/ months/ years
- 3.10) Diarrhea yes/ no
a) If yes, since when: days/ weeks/ months/ years
b) If yes, how often:
often (>3 times a week) / sometimes (< 3 times a week, > once a months)/
rarely (< once a months) / never

no dyspeptic symptoms = exclusion

IV.b Einverständniserklärung auf Englisch und Kiswahili

Einverständniserklärung auf Englisch

Study title: Prevalence and resistance pattern of *Helicobacter pylori* in patients with UGIT symptoms

Principal Investigator: Prof. Stephen Mshana

Assistant Investigator: Nele Ruettgerodt, University Wuerzburg, Dr. Hyasinta Jaka, MMed, MSc. BMC/CUHAS

Address: Catholic University of Health and Allied Sciences, P.O. Box 1464, Mwanza, Tanzania

Telephone number: Bugando Hospital (+255) 28-254-0610

Introduction (Invitation paragraph)

You are being invited to take part in a research study. Before you decide it is important for you to understand why the research is being done and what it will involve. Please take time to read the following information carefully and discuss it with others if you wish. Ask us if there is anything that is not clear or if you would like more information. Take time to decide whether or not you wish to take part. Thank you for reading this.

Why is this study being done?

You intend to undergo gastroscopy because of pains in the upper part of your abdomen. An infection by certain bacteria, named *Helicobacter pylori* (*H.p.*) is the major cause of such problems. This infection can be cured with the right choice of antibiotics. Unfortunately, *H.p.* may become resistant towards antibiotic drugs, causing inferior therapy outcomes. These resistances can easily develop when patients take antibiotic drugs without medical advice from a doctor. In this study we want to analyze if you are infected with *H.p.* and if so whether the *H.p.* you are infected with is resistant to one or more antibiotic drugs. This will be done by a number of different tests to identify *H.p.* infection. Later on specimens will be analyzed by sophisticated tests (PCR) for possible antibiotic resistance. The result gives the doctor the possibility to adjust, if necessary, a subsequent treatment to an effective working combination. The amount of identified resistance among study patients will be compared by age, gender and further risk factors to determine the prevalence of *H.p.* drug resistance in different groups of patients.

Do I have to take part?

It is up to you to decide whether or not to take part in the study. If you do decide to take part you will be given this information sheet to keep and be asked to sign a consent form. If you decide to take part you are still free to withdraw at any time and without giving a reason. A decision to withdraw at any time, or a decision not to take part, will not affect the standard of care you receive.

How many people will take part in the study?

About 180 people will take part in this study.

What will happen if I take part in this research study?

If you decide to take part in the study you will need to give a blood sample, a stool sample and we will take 2 additional biopsies during endoscopy. Furthermore you have to answer a questionnaire.

Which Investigations will be done?

Your blood sample will be analyzed for Helicobacter antibodies. With the stool sample a test will be done to detect remnants of Helicobacter bacteria. Both of these tests are currently available only within the study. Taking a number of small pieces of about 1-2mm in size of the gastric mucosa (biopsies) is a routine diagnostic procedure in gastroscopy. This includes a rapid test for Helicobacter bacteria called urease test and biopsies for histology. For each purpose only one biopsy will be taken. The results of these routine investigations will be compared with the additional tests. For the study one additional biopsy will be taken and preserved for further analyses by a sophisticated method (PCR). In an additional step this will provide information about antibiotic resistance in case of Helicobacter pylori infection.

How long will I be in the study?

The biopsy samples will be taken during your regular endoscopy. On the same day you will be asked to give a blood and a stool sample. The blood test, the faecal test for *H.p.* and the urease test from biopsies will be done instantly providing a result within 1 day. Only the histology and the laboratory analyses of the resistance will be done later in university laboratories in Germany. You will not have any further obligations related to this study.

Can I stop being in the study?

Yes. You can decide at any time to withdraw your consent. The data obtained from you will be removed from the study database and the specimen obtained will be destroyed.

What side effects or risks can I expect from being in the study?

Collecting a stool sample in a clean container is a non-invasive medical procedure without any risks and does not have any side effects. Taking blood sample from a vein on the forearm is also a routine medical procedure, which will be done by experienced medical personnel under sterile conditions. Sometimes a small haematoma may be visible for a few days. Taking biopsies during a gastroscopy is a routine procedure. The 2 additional biopsies taken for study purposes can cause the same side effects as the routine biopsies. You have been counselled about this procedure for the gastroscopy already. Because of the additional biopsies the investigation may take about 3 minutes longer. Furthermore all medication you get during the intervention may induce some side effects. The medication will not be different if you participate in our study compared to the standard endoscopy.

Are there personal benefits to taking part in the study?

We will conduct rapid tests to detect *H.p.* infections providing results within 1 day. This enables us to give you a rapid feedback about your Helicobacter status. With participating in our study you will have access to improved diagnostic facilities currently not available at BMC or in Tanzania. A further part of our study includes laboratory investigations to identify the antibiotic resistance profile of a possibly detected *H.p.* infection. The results will be inserted in your patient file and in case a resistance is found, the following *H.p.* treatment can be adjusted on that, in order to make sure that your treatment regimen is optimally working. If you wish your study doctor will discuss the results of the resistance test with you. All results will be made available to you and your doctor as soon as possible.

What other choices do I have if I do not take part in this study?

Your physician will treat you according to your clinical needs and absolutely independently from your decision to take part in the study.

Will my medical information and my taking part in this study be kept confidential?

All information that is collected about you during the course of the research will be kept strictly confidential. Any information about you which leaves the hospital will have your name and address removed so that you cannot be recognized by a third party.

What are the costs of taking part in this study?

You will need to pay for regular diagnostic and therapeutic procedures caused by your medical condition. You will not need to pay for any study specific procedures. You will not be paid for taking part in this study.

What happens if I am injured because I took part in this study?

As pointed out above it is very unlikely that you will be harmed or injured due to study specific procedures. But if you feel so, it is important that you tell your study doctor or Dr Hyasinta Jaka via mobile number (+255) 768036276

What are my rights if I take part in this study?

Taking part in this study is your choice. You may choose either to take part or not to take part in the study. If you decide to take part in this study, you may withdraw your consent at any time. In this case your data will be removed from the study database and your specimens destroyed. No matter what decision you make, there will be no penalty for you and you will not lose any of your regular benefits. Withdrawing your consent will not affect your medical care. You can still get your medical care from our institution.

Who can answer my questions about the study?

You can talk to your study doctor about any questions or concerns you have about this study. Contact your study doctor Dr Hyasinta Jaka via mobile number (+255) 768036276. Additional Information about your rights while taking part in this study, can be obtained by the Institutional Review Board of the Catholic University of Health and Allied Sciences (CUHAS) (+255) 28-250-0881

Please give your consent

I

- I have read the consent form / it has been read to me. I understand the information and have had my questions answered in a language which is understandable.
- I understand that my participation is voluntary
- I understand that I can withdraw from the study at any time

(Place) (Date)

.....
 Patient's signature

.....
 signature of witness

I agree to take part in this study. YES**Investigator**

I (name)

- I explained everything to about this research
- I encouraged him/her to ask questions about this research
- I am confident now that he/she has understood the research which is going on

(Place) (Date)

.....
 signature of investigator

.....
 signature of witness

Einverständniserklärung auf Kiswahili

Jina la utafiti: Kujua ukubwa watatizo la Mdudu wa Helicobakta pilori na usugu wake katika tiba za wagonjwa ambaowanakuja na matatizo ya tumbo katika kipimo cha endoscopi Bugando Hospitari.

Mtafiti Mkuu: Prof. Stephen Mshana

Mtafiti Msaidizi: Nele Ruettgeroth, toka University Wuerzburg

Hyasinta Jaka, MD,Mmed, Msc

Anwani:Catholic University of Health and Allied Sciences, P.O. Box 1464,
Mwanza, Tanzania

Namba za simu: Ofisini: Bugando Hospital (+255) 28-254-0610

Utangulizi

Unaalikwa kushiriki kwenye utafiti. Tafadhali uchukue muda kidogo kusoma habari hiyo itakayokujulisha kwa undani zaidi kuhusiana n utafiti huo. Uwaulize wafanyakazi au daktari wa mradi wa utafiti swali lolote kuhusu sehemu yoyote ya utafiti ambayo huielewi vizuri. Ni muhimu uwe umeridhika na uelewa wako wa mradi wenyewe na jinsi utakavyoshiriki. Pia unashiriki kwa hiari kabisa na uko huru kukataa kushiriki. Kukataa kwako hakutakuathiri hata kidogo. Pia unaweza kujitoa wakati wowote hata kama umekubali kushiriki hapo mwanzoni. Utafiti huo umekubaliwa na vyombo vya ukaguziv ya kitaasisi vya Catholic University of Health and Allied Sciences/Bugando na chuo kikuu cha Wuerzburg Ujerumani.Hii ni fomu ya kukubali baada ya kuelimishwa. Inakupa habari kuhusiana na utafitihuo. Uko huru kuuliza maswali ya husuyo utafiti wakati wowote.

Kwanini utafiti huo wafanyika?

Lengo la utafiti huo ni kujua ukubwa wa tatizo la wadudu wa bakteria amabo hushambulia tumbo nakusababisha dalili za maumivu tumboni.Wadudu hawa huwa wanaleta shida sana katika matibabu na dawa za kawaida.Katika utafiti huu tutaangalia kama unao wadudu hawa na kama ni aina ya wadudu ambao hawatibiki na dawa za kawaida au la. Tutatumia njia tofauti kutambua uwepo wa wadudu hawa katika mwili wako, na tutatuma sampuli moja ya kipimo kwenda Ujerumani kwa ajili yakujua dawa gani itaweza kutibu mdudu utakaye kuwanaye na majibu haya yatasaidia katika matibabu yako.

Je naweza kushiriki?

Kama ulivyoelezwa mwanzaon kuwa una uwamuzi wakushirik au kutoshiriki katika utafiti huu.Ukikubali kushiriki utaombwa kuweka sahihi yako kwenye fomu hiyo ya kukubali baada ya kuelimishwa.Uwamuzi wako wa kujitoa baada ya kuingi a katika

tafiti hii unakubalika muda wowote ule na haitohalibu matibabu yako katika clinic yako.

Wagonjwa wangapi watashiriki kwenye utafiti huo?

Wagonjwa kama 180 wataandikishwa kushiriki kwenye utafiti miezi miwili ya mwanzo na baada ya hapo tutaendelea kwa wagonjwa wengi zaidi.

Kitatokea nini kama nitakubali kuwa mmoja wa washiri wa utafiti huu?

Utaleta choo kubwa siku ya kipimo, na damu itatolea katika mishipa yako ya veini, na kama kawaida ya kipimo cha endoskopi tutatoa vinyama vidoog tumboni kwa ajili ya vipimo.

Vipimo gani vitafanyika?

Damu yako itapimwa kwa ajili ya kuangalia antibodi zilizotengenezwa na mwili wako baada yakuwa na mdudu huyu wa Helicobacter. Pia choo kubwa itaangaliwa mabaki ya mdudu huyu na vinyama ukubwa wa milimita 1-2 vitapimwa hapa kuangalia uwepo wa mdudu huyu tumboni kama kawaida ya hapa wakati wa kipimo ni muhimu kutoa kinyama kwa kila mgonjwa. Vinyama hivyi pia vitatumwa Ujerumani kwa ajili ya kipimo cha PCR ambacho kitatupa ukweli wa uwepo wa tatizo la wadudu kuwa hawatibiki na dawa za kawaida.

Kwa muda gani nitakuwepo katika utafiti huu?

Ukikubali tunakupata chombo utaweka choo kubwa, na utaleta siku ya kupimwa endoskopi. Na damu yako itachukuliwa siku ukija kama mililita 2, na vinyama vitatolewa siku ya kipimo kama kawaida ya kipimo hiki. Majibu yako utapata siku hiyo, hasa majibu ya choo, damu na kinyama. Na kinyama kingine kitapelekwa kwenye mahabala ya Ujerumani na majibu yakija utapewa.

Naweza kujitoka katika utafiti huu?

Ndiyo, unaweza muda wowote ule. Hayo majibu yote tutakayoyapata kutoka kwako tutatayatoa katika sehemu tulizo hifadhi na damu, choo kubwa na vinyama vitateketezwa nakupotea kabisa baada ya utafiti.

Kuna hatari gani ya utafiti?

Kushiriki kwako hakuongezi hatari kwa sababu ni vipimo ambavyo hutolewa kwa kila mgonjwa ambaye anafanyiwa endoskopi. Ni kwaida kwa mtu ambaye anatolewa damu kupata maumivu eneo lile, hivyo na wewe unasikia maumivu eneo ambalo damu itatolewa.

Kuna faida ya kushiriki kwenye utafiti huo?

Vipimo vitatoka muda mfupi siku hiyo hiyo na utapewa majibu. kushiriki kwako kutasaidia kupata taarifa zitakazosaidia watafiti kuweza kuboresha njia za upimaji wa vidudu vya Helikobakta ambavyo kwa sasa havipo Bugando. Pia utafiti huu utasaidia kujua wadudu sugu amboa hawatibiki kwa dawa zilizo zoeleka. Majibu yote yatawekwa kwenye file lako au form yako kwa wale ambao wanatoka nje ya clinic za Bugando, na Dr wako atakuwa tayari kwa ajili ya matibabu yako.

Kama sitakubali kushiriki katika utafiti huu itakuwaje?

Daktari wako atakutibu tu kwa kuangalia dalili za ugonjwa na kuangalia matakwa ya ugonjwa wako hilo halita tegemea utoshiriki wako katika utafiti.

Vipikuhusuusiri?

Jitihada zote zitafanyika kutunza siri zako. Hata hivyo hatuwezi kukuhakikishia usiri wa asilimia mia. Taarifa zako zaweza kutolewa ikiwa ni lazima kwa mujibu wa sheria. Kwenye taarifa zetu za utafiti tutatumia alama ya siri badala yaj inalako.

Kuna gharama zozote za kulipia?

Hutalipishwa gharama zozote unaposhiriki kwenye utafiti pia hutapokea malipo yoyote kutokana na kushiriki kwako kwenye utafiti huo.

Ikitokea kama nimepata madhara?

Kama ilivyo elezwa awali kuwa hakuna madhara yeyote, hivi ni vipimo ambavyo wagonjwa wanaokuja kwa kupimwa endoskopi huwa wanafanyiwa. Kama kuna tatizo litajitokeza basi uko huru kuwapigia watafiti; Kwa maswali kuhusu utafiti huo au kwa madhara yatokanayo na utafiti wenyewe uwasiliane na: Daktari wako au Hyasinta Jaka kupitia (+255) 768036276. Unaweza kuwasiliana na Kamati ya Utafiti kwa Binadamu kwa (+255) 28-250-0881 ukiwa na malalamiko au matatizo ambayo hayajashughulikiwa ipasavyo. Utapewa nakala ya taarifa hiyo na ya fomu ya kukubali baada ya kuelimishwa ili ukae nayo.

Tamko la mgonjwa

Kupitia sahihi yangu ,mimi nakubali kushiriki kwenye utafiti.

Natamka kwamba:

- Nimesoma au kusomewa taarifa hiyo na fomu ya kukubali baada ya kuelimishwa na kwamba imeandikwa kwa lugha ninayojua vizuri na inayoeleweka kwangu.

- Nilipata nafasi kuuliza maswali na maswali yangu yote yalijibiwa kikamilifu.
- Naelewa kwamba kushiriki kwangu ni kwa hiari na sijashinikizwa kushiriki.
- Naweza kujitoa kwenye utafiti wakati wowote nasitapewa adhabu wala kuan-galiwa vibaya.
- Naweza kuombwa kujitoa kwenye utafiti mapema ikiwa daktari wa utafiti ataona ni bora kwangu au nikishindwa kuendana na ratiba ya utafiti jinsi tu-livyokubaliana.

Imesainiwa (*mahali*) (*tarehe*)

.....
Sahihi ya mgonjwa

.....
Sahihi ya shahidi

Tamko la mtafiti

Mimi (*jina*) natamka kwamba:

- Nilimwelezakilichomo kwenye taarifa hiyo
- Nilimtia moyo aulize maswali na nikatumia muda wa kutosha kuyajibu.
- Nimeridhika kwamba anaelewa mambo yote yanayohusu utafiti huo kama yalivyoelezwa hapo juu.

Imesainiwa (*mahali*) (*tarehe*)

.....
Sahihi ya mtafiti

.....
Sahihi ya shahid

IV.c Votum der Ethikkommission in Mwanza

 CATHOLIC UNIVERSITY OF HEALTH AND ALLIED SCIENCES BUGANDO 		
P.O. Box 1464	Phone: (255) 28-250-0881	Email: principal@bugando.ac.tz
Mwanza, Tanzania	Fax: (255) 28-250-2678	Website: www.bugando.ac.tz
CUHAS/BMC RESEARCH & ETHICAL COMMITTEE (CREC) ETHICAL CLEARANCE FORM		
Date	20 July 2014	
Research Clearance Certificate No	CREC/036b/2014	
Name of researcher/PI	Nele Ruettergeroth	
Purpose of the research	Medical Doctor Training of the University of Wuerzburg, Germany	
Title of the Research	Prevalence and Resistance Pattern of Helicobacter Pylori in Patients with Upper Gastrointestinal Tract Symptoms	
Budget and Sponsor(s)	€ 6.565/= Medical Mission Institute, Wuerzburg, Germany	
Research period	July 2014 to June 2015	
<p>Ethical clearance is hereby granted. A progress report shall be submitted to the Committee every 6 months.</p>		
 CREC Chairperson		 CREC Secretary

V Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Fertigstellung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein herzlicher Dank gilt meinem Betreuer Dr. med. Andreas Müller und meinem Doktorvater Prof. Dr. August Stich, die mir den Forschungsaufenthalt in Tansania und die Erarbeitung dieser Dissertation ermöglicht haben und mir inhaltlich, organisatorisch und zwischenmenschlich durchweg zur Seite standen.

Ich danke Dr. rer. nat. Wolfgang Bohne für die intensive und warmherzige Betreuung während der Laborarbeiten in Göttingen und für die stets konstruktive, sehr hilfreiche Kritik.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. med. Stephen Mshana, Frau Dr.ⁱⁿ med. Hyasinta Jaka und Dr. med. Kessy Obed Mheta für die Zusammenarbeit und für die tatkräftige Unterstützung bei der Proben- und Datengewinnung in Tansania.

Vielen Dank an Dr. disc. pol. Gerd Ziegler und Frau Dr.ⁱⁿ phil. Nina Gülcher für ihre hilfreichen Ratschläge und für die wertvollen Korrekturen und Anmerkungen, die mir in vieler Hinsicht einen anderen Blickwinkel ermöglichen haben.

Mein besonderer Dank gilt zudem meiner Schwester und meinen Eltern für ihre vielen ermunternden Worte, ihr stets offenes Ohr und ihre unermüdliche Unterstützung und Förderung in allen Lebensphasen und dafür, dass sie die Entstehung dieser Arbeit erst möglich gemacht haben.